Leitfähigkeitsänderungen während der Nachhyperpolarisation und ihre Bedeutung für das repetitive Entladungsverhalten spinaler Motoneurone.

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Karl-Heinz Mauritz

Saarbrücken

1973

Aus dem I. Physiologischen Institut der Universität des Saarlandes

Direktor : Professor Dr. med. Robert Stämpfli

Leitfähigkeitsänderungen während der Nachhyperpolarisation und ihre Bedeutung für das repetitive Entladungsverhalten spinaler Motoneurone.

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Karl-Heinz Mauritz

geb. am 7. August 1944 in Krummau/CSSR

Dekan : Prof. Dr. H. Kulenkampff

Referent: Prof. Dr. A.C. Nacimiento

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Juni 1973

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
METHODE	6
A. Narkose	6
B. Präparation	6
C. Künstliche Beatmung	7
D. Reizungen :	8
1. Antidrome Reizung	8
2. Intrazelluläre Reizung	8
E. Elektroden	10
F. Ableit- und Registriertechnik	12
ERGEBNISSE	18
I. Charakterisierung der untersuchten Motoneurone	18
A. Identifizierung	18
B. Auswahlkriterien	21
C. Membranpotential und antidromes Aktionspotential	22
1. Membranpotential	22
2. Antidrom ausgelöstes Aktionspotential	22
D. Passive Membraneigenschaften	24
1. Membranwiderstand	24
a) Messung durch elektrotonische Potentiale	24
b) Messung durch Spikehöhen-Methode	25
2. Zeitkonstante der Membran und elektrotonische Länge eines äquivalenten Zylinders	27
II. Nachpotentiale nach antidromen Aktionspotentialen	30
A. Nachdepolarisation	32
B. Nachhyperpolarisation	34

Seite

III. Leitfähigkeitsänderung während der Nachpotentiale 40

A. Leitfähigkeitsverlauf nach einem antidromen Spike 43

B. Leitfähigkeitsänderung bei repetitiven antidromen Aktionspotentialen 47

C. Leitfähigkeitsänderungen bei intrazellulär ausgelöster repetitiver Spikeaktivität 51

D. Leitfähigkeitsänderungen nach einem antidromen AP bei Verstellung des Membranpotentials in hyperpolarisierender Richtung 53

IV. Repetitives Entladungsverhalten bei intrazellulärer Reizung 57

A. Minimale Entladungsfrequenz 57

B. Entladung im "primary range" 58

C. Entladung im "secondary range" 62

D. Adaptation 64

V. Vergleich von Leitfähigkeitsverlauf und Reizstromstärke-frequenz-Beziehung 66

DISKUSSION 69

I. Membraneigenschaften der untersuchten Motoneurone 69

II. Bedeutung der Leitfähigkeitsänderung für den Übergang vom "primary" zum "secondary range" 71

III. Bedeutung der Leitfähigkeitssummation für die initiale Adaptation 76

a) "primary range" 77

b) "secondary range" 78

IV. Mögliche Entstehungsweise der Plateau-Phase 78

ZUSAMMENFASSUNG 82

LITERATURVERZEICHNIS 85

EINLEITUNG

Spinale Motoneurone erhalten erregende und hemmende Afferenzen verschiedenen Ursprungs, die synaptisch auf Dendriten und Soma übertragen werden. Das Neuron integriert diese synaptischen Zuflüsse, formt sie in repetitive Entladungen um und leitet diese Information auf der "gemeinsamen Endstrecke" (SHERRINGTON) an die Peripherie, die Muskelfasern der motorischen Einheit weiter. Dabei sind die repetitiven Entladungseigenschaften der jeweiligen Motoneurone und die Kontraktionseigenschaften ihrer zugehörigen Muskelfasern eng aufeinander abgestimmt. Weiße Muskelfasern mit rascher Kontraktion werden von Motoneuronen mit höherer Entladungsfrequenz und größerer Leitungsgeschwindigkeit innerviert als rote Muskelfasern mit langsamer Kontraktion (DENNY-BROWN, 1929; BURKE, 1967; 1968 a, 1968 b). Ebenso wie bei den Muskelfasern werden bei den α-Motoneuronen mehrere Typen unterschieden. GRANIT et al. (1956) beschrieben auf Grund verschiedener repetitiver Entladungseigenschaften nach orthodromer Reizung zwei große Gruppen von α-Motoneuronen: Tonisch entladene, die mit langdauernden Impulssalven niedriger Frequenz antworten und phasisch entladene mit kurzen hochfrequenten Salven von Aktionspotentialen. Die meisten Untersuchungen am Motoneuron sprechen dafür, daß eine unterschiedliche synaptische Verschaltung und / oder eine unterschiedliche Zellgeometrie das verschiedene Entladungsverhalten bedingen (HENNEMANN

et al., 1965; KUNO und MIYAHARA, 1969). So konnte eine phasische Entladungsweise allein durch eine andere Reizart in eine tonische umgewandelt werden und umgekehrt (HENATSCH et al., 1959, durch sehr starke synaptische Reizung; REDMAN und LAMPARD, 1968, durch stochastische orthodrome Reizung).

Bei intrazellulärer Reizung mit depolarisierenden Rechteckströmen, die der physiologischen Situation einer kontinuierlichen synaptischen Depolarisation bei Reflexentladungen nahe kommt (FRANK und FUORTES, 1961; GRANIT und RENKIN, 1961) können beide Motoneurontypen zu langdauernder repetitiver Entladung gebracht werden (KERNELL, 1965 a) die folgende Gesetzmäßigkeiten aufweist:

Die initiale Entladungsfrequenz erreicht nach wenigen Aktionspotentialen einen niedrigeren konstantbleibenden Wert, d.h. das Motoneuron unterliegt einer initialen Adaptation. Die Reizstromstärke-Frequenzbeziehung des Motoneurons zeigt, anders als etwa die der peripheren Nervenfaser, zwei lineare Bereiche, den sog. "primary" und den steileren "secondary range", die mit einem ziemlich scharfen Knick ineinander übergehen (GRANIT et al., 1963 b; KERNELL, 1965 b; SCHWINDT und CALVIN, 1972). Die initiale Adaptation äußert sich in der Stromstärke-Frequenzbeziehung in einem Abflachen des "primary" und vor allem des "secondary range". Die Steilheit ("gain") des "secondary range"

nimmt dabei im Laufe der ersten Spike-Intervalle so ab, daß danach nur noch eine einfache lineare Stromstärke-Frequenzbeziehung zu erkennen ist.

Von besonderer Bedeutung unter den möglichen Faktoren die dieses repetitive Entladungsverhalten bestimmen, sind die Nachpotentiale nach einem Aktionspotential (AP). Schon durch extrazelluläre Ableitungen konnten BROOKS et al. (1950) feststellen, daß Motoneuron-Aktionspotentiale von einer "subnormalen Phase" gefolgt sind, die im Soma-Dendriten-Spike ihren Ursprung hat. Durch intrazelluläre Ableitungen mittels Mikroelektroden wurde später bestätigt, daß der Soma-Dendriten-Spike von einer sehr kurzen Nachdepolarisation (NDP) und einer daran anschließenden Nachhyperpolarisation (NHP) gefolgt ist (COOMBS et al. 1955; BROCK et al. 1952). Eine Nachdepolarisation findet sich bei der Katze in etwa 50 % der Motoneurone. Ihre Dauer ist so kurz, daß sie wahrscheinlich keinen entscheidenden Einfluß auf die repetitive Aktivität am intakten Tier nimmt (KERNELL, 1964). Umso mehr wurde die NHP im Zusammenhang mit der repetitiven Aktivität untersucht. COOMBS et al. (1955) zeigten, daß die NHP auf eine Leitfähigkeitserhöhung für K^+ zurückzuführen ist. Bei rasch aufeinanderfolgenden Aktionspotentialen kommt es zu einer Vergrößerung der NHP, die auf einer Summation der K^+- Leitfähigkeit beruht (ITO und OSHIMA, 1962). Eine weitere enge Beziehung zwischen

NHP und repetitiver Aktivität ergab sich aus dem Befund (ECCLES et al., 1958; KUNO, 1959), daß langsam feuernde Motoneurone mit niedriger Leitungsgeschwindigkeit eine längere NHP aufweisen als schnell feuernde. KERNELL (1965 c) fand eine enge Korrelation zwischen der minimalen repetitiven Entladungsfrequenz und dem reziproken Wert der NHP-Dauer. Das bedeutet, daß das größtmögliche Spike-Intervall bei repetitiver Entladung und die NHP-Dauer des Motoneurons gleich sind. Ferner erfolgt der Übergang vom "primary" zum "secondary range" bei einer bestimmten Punkt der NHP und zwar gleichbleibend für die ersten Intervalle einer Salve. Die Reizstromstärke, bei der dieser Übergang erfolgt, kann dabei beträchtlich schwanken. KERNELL (1968) versuchte deshalb in einem theoretischen Modell die repetitive Aktivität des Motoneurons durch Leitfähigkeitsänderungen während der NHP zu beschreiben. Dabei ging er von der Annahme aus, daß die Leitfähigkeit der Membran am Ende der schnellen Repolarisationsphase nach einem AP ihren Maximalwert besitzt und danach exponentiell abfällt, eine Annahme, deren Berechtigung von BALDISSERRA und GUSTAFSSON (1971b) auf Grund ihrer Untersuchungen in Frage gestellt wurde.

Nachdem in einer früheren Arbeit (RICHTER et al., 1972) für den Übergang vom "secondary range" zu einem dritten unlinearen

Bereich ein Wechsel des Spikegeneseortes wahrscheinlich gemacht werden konnte, sollte in der vorliegenden Arbeit der genaue Verlauf der Leitfähigkeitsänderung während der NHP bestimmt werden, um zu klären, inwieweit Leitfähigkeitsänderungen während der NHP für die repetitive Entladung spinaler Motoneurone eine Rolle spielen; insbesondere sollte untersucht werden, ob damit der Übergang vom "primary" zum "secondary range" erklärt werden kann. An Hand dieser Ergebnisse sollte darüber hinaus geprüft werden, ob Leitfähigkeitsänderungen während der NHP auch eine Erklärung für die initiale Adaptation liefern, wie es indirekte Befunde vermuten lassen (KERNELL, 1972 a). Eine genaue Beschreibung der Membraneigenschaften der untersuchten Motoneurone erschien im Rahmen dieser Arbeit notwendig und sollte als Grundlage zur Beurteilung der Ergebnisse dienen.

METHODE

Die vorliegende Untersuchung wurde an etwa 80 Katzen beiderlei Geschlechts zwischen 2.2 und 3.6 kg vorgenommen.

A. NARKOSE

Die Tiere wurden mit Pentobarbital-Na (Nembutal^{R}, Abbot) in einer anfänglichen Dosierung von 35 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal narkotisiert. Im Verlauf des Versuches wurde je nach Bedarf, meist 5 bis 10 mg Nembutal intravenös über einen in der V. radialis liegenden Polyäthylen-Katheder nachinjiziert.

B. PRÄPARATION

Das Rückenmark wurde durch eine dorsale Laminektomie im Bereich von L_4 bis S_1 freigelegt. Die Laminektomie wurde seitlich bis zum Processus transversus ausgeführt, um durch eine schräge laterale Einstichsrichtung die lumbalen Motoneurone in möglichst geringer Tiefe zu erreichen, was innerhalb von 2 mm auch möglich war (REXED, 1952). Die Tiere wurden nach Aufsprühen von Äthylchlorid in Höhe von Th_{12} durch Abschnüren des Rückenmarks spinalisiert. Nach Eröffnung der Dura wurden die Hinterwurzeln von L_4, L_5 und S_1 durchschnitten. Für die antidrome Reizung wurden ipsilateral folgende Muskelnerven freipräpariert und peripher durchschnitten: N. gastrocnemius, N. soleus, N. tibialis ant., N. tibialis post., zuweilen auch

die Nerven für den M. biceps femoris.

C. KÜNSTLICHE BEATMUNG

Um die Übertragung der Atembewegungen auf den Lumbalteil des Rückenmarks herabzusetzen, wurden in manchen Versuchen die Tiere künstlich beatmet und ein bilateraler Pneumothorax angelegt: Nach einer Tracheotomie wurden die Tiere über eine Trachealkanüle durch eine Harvard-Atempumpe beatmet und gleichzeitig mit Gallamine triethiodid (Flaxedil^{R}) 6 bis 10 mg/kg Körpergewicht kurarisiert. Im Verlauf des Versuches wurde bei Bedarf Flaxedil nachgegeben. Meistens betrug diese Menge unter 5 mg/kg Körpergewicht pro Stunde.

Bei allen Versuchen wurde pCO_2 in der Ausatmungsluft kontinuierlich aufgezeichnet. Es wurde darauf geachtet, daß sich pCO_2 bei künstlicher Beatmung gegenüber dem Wert bei Spontanatmung nicht wesentlich veränderte.

Die Rektaltemperatur der Tiere wurde fortlaufend registriert und durch einen Thermostaten mit einer Infrarot-Heizlampe auf etwa 37^{o} C gehalten.

Um den Zustand des Versuchstieres zu kontrollieren wurden folgende Funktionen fortlaufend registriert:

Blutdruck: Über einen in der A. carotis eingebundenen Polyäthylen-Katheder wurde der Blutdruck mittels eines Statham-Transducers aufgenommen und auf einem Kanal eines Offner-Beckman-

Polygraphen registriert. Außerdem wurde die Herzfrequenz, das EKG und in einigen Versuchen das EEG fortlaufend mitgeschrieben.

Um die Versuchstiere über mehrere Stunden in einem optimalen Zustand zu halten, wurden geringe Mengen von Glukose- oder Plasmaexpanderlösungen infundiert.

D. REIZUNGEN

1. Antidrome Reizung

Die frei präparierten Muskelnerven wurden einzeln auf bipolare Reizelektroden aus Platindraht gelegt und in Paraffinöl eingetaucht (Abb. 1). Es wurden erdfreie Reizgeräte (Devices Typ 2533) mit einem Ausgangs-Widerstand von 1300 Ω verwendet. Zur Reizung mit Impulssalven wurden Gated Pulsgeneratoren (Devices Typ 2521) benutzt. Alle Reizgeräte wurden von einem Digitimer (Devices Typ 3290) angestoßen, wobei die Verzögerung ebenso wie die Dauer und die Frequenz von Impulssalven für jedes Reizgerät beliebig gewählt werden konnte.

2. Intrazelluläre Reizung

Mit einem Reizgerät, das verschiedene Reizformen und -kombinationen zuließ (Rechteckreize, linear ansteigende Reize, Ausgangswiderstand 2000 Ω, gebaut von Dipl-Phys. Weymann)

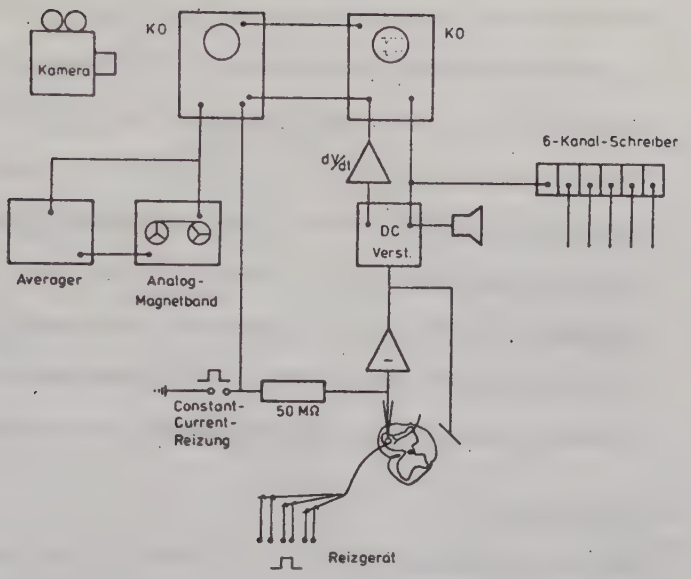

Abb. 1 :

Blockschaltbild der Versuchsanordnung. Das Präparat lag in der Gegenkopplung. Gleichzeitig mit der Potentialänderung V wurde davon der Differentialquotient dV/dt registriert. Als Audiomonitor diente ein einfacher Lautsprecher. Auf dem 6-Kanal-Schreiber wurden folgende Funktionen registriert: Membranpotential des Motoneurons, Blutdruck, pCO_2, EKG, Herzfrequenz, EEG und Atemexkursionen. Manche Daten wurden auf einem Fabri-Tek Averager ("Mittelwertbildner") 1070 gemittelt und auf einem nicht gezeigten x-y-Schreiber ausgeschrieben. Über einen Vorwiderstand von 50 MΩ konnten Reizströme intrazellulär appliziert werden.

wurde über einen Vorwiderstand R_V von 50 MΩ Strom durch die Mikroelektrode in die Zelle injiziert. Die Reizstromstärke, die an der Membran wirksam wird, errechnet sich bei dieser Anordnung aus der angelegten Spannung U_R und dem Vorwiderstand R_V zu $I = U_R / R_V$. Um durch dieselbe Mikroelektrode Strom applizieren und gleichzeitig Membranpotentialänderungen ableiten zu können, wurde eine Kompensationsschaltung, wie sie in Abb. 2 angegeben ist, verwendet. Dabei wird der durch den Reizstrom am Mikroelektrodenwiderstand R_e hervorgerufene Spannungsabfall abgeglichen.

E. ELEKTRODEN

Für die intrazellulären Ableitungen wurden Glasmikroelektroden verwendet (Pyrex 7740). Ziehen und Füllen erfolgte auf die übliche Weise: Nach dem Ziehen mit einem Vertikal-Ziehgerät wurden die Pipetten zunächst mit Methanol bei Unterdruck gefüllt und anschließend für einige Stunden in destilliertes Wasser gestellt, bevor sie in eine der folgenden Lösungen gebracht wurden: 2 M K-Citrat, 3 M KCl, 1 M und 5 M K-Acetat. Am häufigsten wurden K-Citrat-Elektroden verwendet. In einigen Versuchen wurden die Elektroden außen versilbert, um die über die gesamte Oberfläche verteilte Kapazität zu verringern. Die Elektrodenspitze wurde

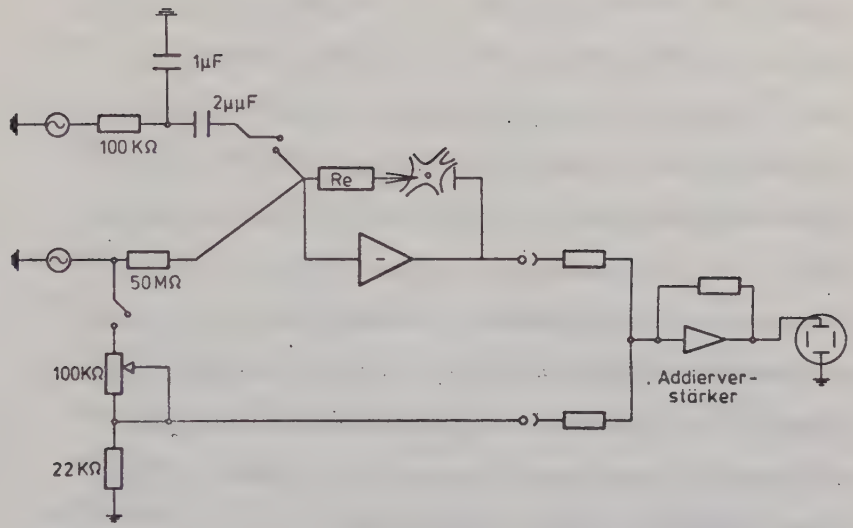

Abb. 2 :

Schematische Anordnung zur Ableitung von Potentialänderungen, intrazellulären Reizung und Bestimmung des Elektrodenwiderstandes R_e. Der Eingang des Gegenkopplungsverstärkers liegt auf virtuellem Erdpotential, das Präparat und die Mikropipette in der Gegenkopplungsschleife. Links oben kann an den Verstärkereingang eine Anordnung zur Bestimmung des Elektrodenwiderstandes angeschlossen werden: Ein Rechteckimpuls wird durch ein Integrierglied zuerst integriert und danach wieder differenziert. Aus der Höhe des entstehenden Rechteckimpulses kann der Elektrodenwiderstand abgelesen werden. Bei intrazellulärer Reizung wird über einen Vorwiderstand von 50 MΩ Strom in die Zelle injiziert und gleichzeitig über eine Kompensationsschaltung ein Teil der Spannung auf den zweiten Eingang eines Addierverstärkers gegeben.

dann auf einer Strecke von etwa 100 µm mit HCl elektrolytisch freigeätzt. Da bei den Versuchen durch die seitliche Einstichsrichtung die Einstichtiefe der Elektroden ziemlich gering gehalten werden konnte, spielte die verteilte Kapazität keine entscheidende Rolle. Der Elektrodenwiderstand lag zwischen 3 und 15 MΩ. In einigen Fällen wurde die Spitze im Rasterelektronenmikroskop angesehen (Abb. 3). Der Durchmesser lag zwischen 0.5 bis über 1 µm. Besonderes Augenmerk wurde darauf verwendet, daß die Elektroden eine lineare Strom-Spannungscharakteristik zeigten (RUBIO und ZUBIETA, 1961). Deshalb wurden neben dem Elektrodenwiderstand auch die stromtragenden Eigenschaften gemessen, z. T. in Ringerlösung, meist jedoch im Gewebe (Abb. 4).
Elektroden mit einem Spitzenpotential über 5 mV wurden verworfen. Da bei manchen Chargen ein ziemlich großer Anteil an Elektroden eine Polarisation Strominjektion zeigte, wurde ein Teil der Versuche mit geschliffenen und dadurch dickeren Elektroden durchgeführt (BARRETT und GRAUBARD, 1970).

F. ABLEIT- UND REGISTRIERTECHNIK

Die Mikroelektroden wurden über eine Ag-AgCl-Verbindung mit dem Eingang eines Gleichspannungsverstärkers in Gegenkopplungsschaltung verbunden (STÄMPFLI, 1963).

Das Präparat liegt dabei in der Gegenkopplungsschleife (Abb. 2). Eine Potentialdifferenz zwischen differenter (Mikroelektrode) und indifferenter Elektrode wird vom negativen Rückkopplungsverstär-

ker so ausgeglichen, daß eine Änderung an der Eingangsspannung durch die Stromgegenkopplung ausgeglichen wird. Der Verstärkereingang wird damit zur virtuellen Erde; am Ausgang erhält man die Spannungsänderung über der Membran (Verstärkung : 1), die im folgenden auf einen DC-Verstärker (Tektronix-Einschub 3A72) gegeben wird (Abb. 1).

Von diesem DC-Verstärker gehen Verbindungen zu:

a) einem Operationsverstärker (Tektronix-Einschub 3A8, Zeitkonstante 0.1 msec), der den Differentialquotienten dV/dt des Signals bildet,

b) einem Kanal eines Beckman Dynographen Typ R zur fortlaufenden Registrierung des Membranpotentials,

c) einem Speicheroszillographen (Tektronix R 564 B), der als Monitor verwendet wurde,

d) einem Zweistrahloszillographen (Tektronix 502 A). Von diesem Oszilloskop wurde mit einer Grass Kymographenkamera die Membranpotentialänderung, die Differenzierung davon, oder bei intrazelluärer Reizung die Reizspanne registriert,

e) einem Lautsprecher für die akustische Kontrolle neuronaler Aktivität,

f) einem Mittelwertbildner (Fabritek Model 1070), mit dem bei verschiedenen Gelegenheiten Potentialverläufe gemittelt wurden,

g) einem Anlalog-Magnetbandspeicher (Philips Analog 7).

Die zentrale Triggerung der einzelnen Geräte erfolgte über den erwähnten Digitimer.

Messung des Elektrodenwiderstandes während des Versuches (GESTELAND et al., 1959): Ein Rechteckimpuls von 50 mV und 1 msec Dauer lädt über einen 100 kΩ Widerstand einen 1 µF Kondensator auf. Da der Rechteckpuls kurz ist im Vergleich zur Zeitkonstante der Schaltung (100 msec) ist der Spannungsverlauf über dem 1 µF Kondensator ungefähr ramp-förmig. Diese linear ansteigende Spannung wird über einen 2 pF Kondensator der Mikroelektrode zugeleitet und ergibt einen Rechteckimpuls, dessen Höhe in Millivolt bei dieser Dimensionierung dem Elektrodenwiderstand in MΩ entspricht (Abb. 2).

Abb. 3:

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Mikroelektrodenspitze.

Spitzendurchmesser: 0.8 µm.

Die Elektroden wurden mit Gold bedampft.

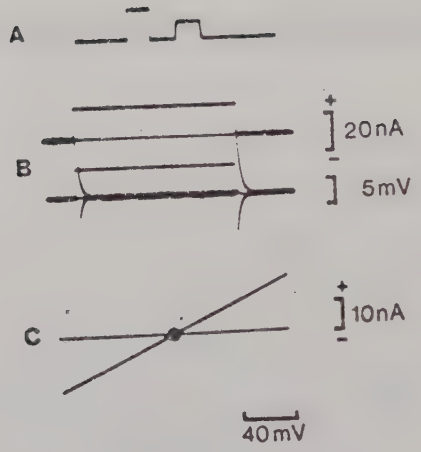

Abb. 4 :

Elektrische Eigenschaften der Glasmikroelektroden. Messungen in Ringer-Lösung.

A. Links: Eichimpuls von 10 mV und 1 msec Dauer. Rechts: Elektrodenwiderstand. Die Meßeinrichtung ist so dimensioniert, daß 1 mV des Eichimpulses 1 MΩ Elektrodenwiderstand entspricht.

B. Prüfung des Abgleichs bei Strominjektion durch die Mikropipette. Oben Stromregistrierung, unten Potentialregistrierung mittels Mikroelektrode.

C. Strom-Spannungscharakteristik derselben Mikroelektrode. Der Widerstand beträgt 5 MΩ.

VERZEICHNIS DER BENUTZTEN ABKÜRZUNGEN

A-Spike	Initialsegment-Spike (entspricht dem IS-Spike)
AP	Aktionspotential
B-Spike	Soma-Dendriten-Spike (entspricht dem SD-Spike)
I	Reizstrom
Imp	Impulse
IS-Spike	Initialsegment-Spike
L	elektrotonische Länge
n	Anzahl der untersuchten Neurone
NDP	Nachdepolarisation
NHP	Nachhyperpolarisation
R_e	Mikroelektrodenwiderstand
R_m	Membranwiderstand in Ruhe
R_s	Membranwiderstand im Gipfel des Aktionspotentials
R_V	Vorwiderstand bei intrazellulärer Reizung
SD-Spike	Soma-Dendriten-Spike
SD	Standardabweichung
U_R	Reizspannung
V	Membranpotential
ΔV_R	Änderung des Ruhepotentials durch kurzen Stromimpuls
V_s	Aktionspotentialamplitude
V_t	Änderung des Membranpotentials durch kurzen Stromimpuls zur Zeit t des Nachpotentials
τ_M	Membranzeitkonstante
τ_1	erste Ausgleichskonstante

ERGEBNISSE

I. CHARAKTERISIERUNG DER UNTERSUCHTEN MOTONEURONE

A. Identifizierung

Bei der Untersuchung spinaler Motoneurone der Katze mit Hilfe von intrazellulären Mikroelektroden ist eine direkte visuelle Kontrolle der Elektrodenposition nicht möglich. Mit einer Mikropipette werden daher im Rückenmark verschiedene erregbare Strukturen penetriert, die zunächst nur auf Grund ihrer verschiedenen Aktivität differenziert werden können. Als Hilfsmittel bei der Identifizierung der α-Motoneurone wurde die antidrome Vorderwurzelreizung bzw. die antidrome Reizung von Muskelnerven bei durchtrennter Hinterwurzel benutzt (BROCK, COOMBS und ECCLES, 1951, 1952, 1953; COOMBS, ECCLES und FATT, 1955; COOMBS, CURTIS und ECCLES, 1957 a, 1957 b; ARAKI, OTANI und FURUKAWA, 1953; FRANK und FUORTES, 1955, 1956; FUORTES, FRANK und BECKER, 1957). Es wurden zwei Rückenmarkselemente gefunden, die auf einen überschwelligen Vorderwurzelreiz mit einem einzigen Impuls von sehr kurzer Latenz (ca. 0.2 msec) antworteten, nämlich motorische Axone und Motoneuronsomata bzw. Dendriten (FRANK und FUORTES, 1955). Häufig wurden auch andere Zellelemente angetroffen, die sich jedoch klar unterscheiden ließen. Interneurone senden keine Axone in die Vorderwurzel. Sie ließen sich im allgemeinen durch eine Vorderwurzelreizung nicht aktivieren (HUNT und KUNO, 1959), mit Ausnahme der sogenannten

Renshaw-Zellen, die als postsynaptische Einheiten mit einer Latenz von mindestens 0.5 msec auf eine Vorderwurzelreizung mit ausgeprägter repetitiver Aktivität antworteten (RENSHAW, 1946; ECCLES, FATT und KOKETSU, 1954). γ-Motoneurone, die in dieser Arbeit nicht berücksichtigt werden sollen, wurden durch ihre niedrigere Leitungsgeschwindigkeit ausgeschlossen, die durch periphere Nervenreizung bestimmt wurde. Die mittlere Leitungsgeschwindigkeit bei stabilen α-Motoneuronableitungen betrug 60 bis 85 m/sec. HURSH (1939) und GASSER und GRUNDFEST (1939) fanden am peripheren Nerv der Katze, daß die Leitungsgeschwindigkeit in m/sec etwa 6 mal so groß ist wie der Faserdurchmesser in µm. BISHOP, JEREMY und LANCE (1953) konnten zeigen, daß der Faktor 6 in etwa auch für zentrale myelinisierte Fasern gilt. Das entspricht bei den abgeleiteten Fasern einem mittleren Durchmesser von 10 bis 15 µm, was gut mit der Faserdicke von α-Motoneuronen übereinstimmt. Neben Interneuronen und γ-Motoneuronen wurden sehr häufig Einheiten angestochen, die einen Membranpotentialsprung bis -65 mV aufwiesen, aber weder antidrom noch orthodrom aktiviert werden konnten. Meist war auch durch direkte Reizung über die Mikroelektrode keine Erregung auszulösen. Wahrscheinlich handelte es sich dabei z. T. um Gliaelemente, z. T. um elektrisch unerregbare neurale Elemente (FRANK und FUORTES, 1955).

Motoneuron-Soma und Axon wurden hauptsächlich durch die Form ihres antidromen Aktionspotentials unterschieden, wenn auch oft noch andere Kriterien, wie passive Membraneigenschaften und repetitives Verhalten herangezogen wurden.

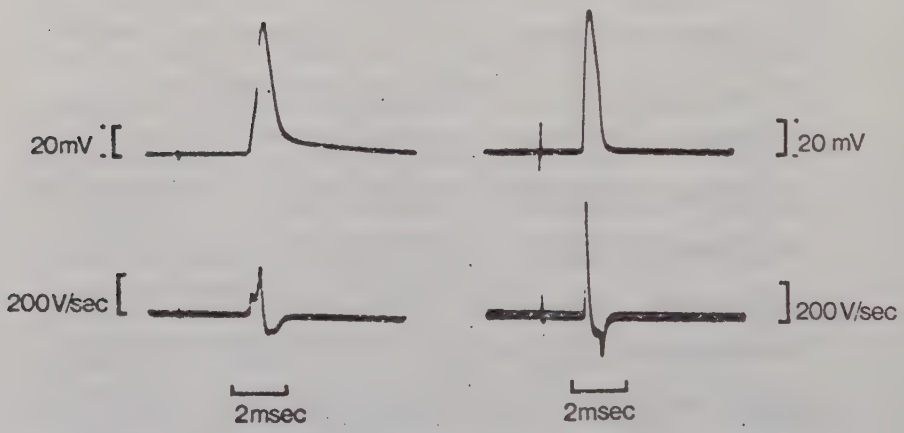

Abb. 5 :

Antidrome Aktionspotentiale (oben) mit Differentialquotientenableitung (unten) bei intrasomaler (links) und axonaler (rechts) Elektrodenposition. Reizung des N. gastrocnemius. Die längere Latenzzeit des intrasomal abgeleiteten AP ist gut zu beobachten.

Das Aktionspotential eines Motoneuron-Somas (Abb. 5, links) zeigt einen deutlichen Knick in der Anstiegsphase, der in der Differenzierung (dV/dt) noch besser zu beobachten ist. Die beiden Komponenten des AP entsprechen dem IS- und SD-Spike von COOMBS, CURTIS und ECCLES (1957a) bzw. dem A- und B-Spike von FRANK und FUORTES (1955). An die schnelle Repolarisationsphase schließt sich oft eine kurzdauernde Nachdepolarisation an, die von einer langen Nachhyperpolarisation gefolgt ist (in Abb. 5 nicht zu sehen). Deutlich davon unterscheiden sich Aktionspotentiale von motorischen Axonen (Abb. 5, rechts). Das AP ist bei ihnen charakterisiert durch eine schnellere Anstiegsphase, durch eine Beschleunigung in der Repolarisationsphase, durch eine kurze Spike-Dauer und sehr kleine Nachpotentiale. Außerdem depolarisierten Axone nach Penetration rascher als Motoneurone.

B. Auswahlkriterien

Viele der angestochenen Zellkörper zeigten in ihren Ableitungen Verletzungserscheinungen, nämlich eine rasche Abnahme des Membranpotentials der Anstiegssteilheit und der Spike-Amplitude, dazu eine starke Verlängerung der AP-Dauer. Für die Auswertung der Messungen wurden Motoneurone verwendet, die folgende Kriterien zeigten:

Ableitungsdauer	mindestens 15 min
AP-Amplitude	über 70 mV

AP-Anstiegssteilheit (AB-Spike)	über 200 V/sec
AP-Dauer	unter 1.8 msec
Membranpotential	über 50 mV

keine Verletzungsentladungen

keine Blockierung des B-Spikes

C. Membranpotential und antidromes Aktionspotential

1. Membranpotential

Das Membranpotential der untersuchten Motoneurone betrug im Mittel -67 mV ± 7 SD (n = 27).

Bei Zellableitungen wurde das Membranpotential fortlaufend registriert. Dadurch konnte das MP bei den jeweiligen Messungen nachträglich kontrolliert werden. Messungen bei denen das MP deutlich abnahm, wurden zur Auswertung nicht herangezogen. Als Bezugspunkt der Messung des Membranpotentials wurde das Potential bei Zurückziehen der Mikroelektrode am Ende der Messung genommen, da am Anfang beim Anstechen der Zelle nicht immer ein glatter Potentialsprung zu sehen war.

2. Antidrom ausgelöstes Aktionspotential

Bei den so gewonnenen Soma-Ableitungen folgte bei Vorderwurzelreizung nach einer mittleren Latenzzeit vom 0.34 msec ± 0.12 SD (n = 26) ein aus IS- und SD-Spike zusammengesetztes AP. Der von ECCLES (1955) beschriebene M-Spike, der vom ersten Ranvierschen Schnürring elektrotonisch fortgelei-

tet wird, konnte in einigen Ableitungen beobachtet werden. Seine Amplitude betrug etwa 5 bis 7 mV. Die Überleitungszeit vom M- zu IS-Spike war in diesen Fällen zwischen 0.1 und 0.2 msec.

Die IS-Komponente zeigte eine maximale Anstiegssteilheit von 150 V/sec. Mit einem mehr oder weniger deutlich erkennbaren Knick folgt darauf die SD-Komponente mit einer höheren Anstiegssteilheit von 345 V/sec ± 96 SD (n = 26).
Der Knick war am deutlichsten in der Differentialquotientenableitung zu sehen (Abb. 5). Die Amplitude der IS-Komponente schwankte, bei den meisten Registrierungen lag sie jedoch zwischen 30 und 40 mV.

Tabelle 1: Eigenschaften des SD-Spikes

		SD	n
Spike-Amplitude	83.3 mV	± 8.2	26
Max. Anstiegssteilheit	345.1 V/sec	± 96.0	26
max. Repolarisationsgeschwindigkeit	116.7 V/sec	± 46.8	26
Spike-Dauer	1.36 msec	± 0.3	26

Blockierung der Überleitung

Bei einigen Versuchssituationen kam es zu einer Blockierung der Erregungsüberleitung vom Initialsegment zum Soma: Bei repetitiv antidromer Reizung war die maximale Folgefrequenz des SD-Spikes bei langen Salven etwa 30/sec. Für eine kurze Salve von Aktionspotentialen lag die maximale Folgefrequenz jedoch wesentlich höher. Die ersten drei bis fünf Aktionspo-

tentiale konnten einer antidrom repetitiven Reizung von über 50/sec folgen.

Der IS-Spike wurde erst bei einer wesentlich höheren Frequenz (etwa 630/sec) blockiert. Eine Blockierung der Erregungsfortleitung zwischen Initialsegment und Soma-Dendriten-Komplex konnte auch durch Verstellung des Membranpotentials in hyperpolarisierender Richtung erreicht werden. So war es möglich, den isolierten IS-Spike zu beobachten, dessen Dauer 1.0 bis 1.5 msec betrug. Die Anstiegssteilheit entsprach der IS-Komponente im zusammengesetzten Aktionspotential. Wichtig in diesem Zusammenhang ist die Tatsache, daß der isolierte IS-Spike von keiner Nachhyperpolarisation gefolgt ist: Ein Hinweis für die verschiedenen Membraneigenschaften von Initialsegment und Soma-Dendriten-Komplex. Die Amplitude des SD-Spikes betrug im Mittel 83 mV $\pm$ 8 SD (n=26). Die Spike-Dauer wurde in der Differentialquotientenableitung bestimmt und hatte einen Wert von 1.36 msec $\pm$ 0.31 SD (n=26).

D. Passive Membraneigenschaften

1. Membranwiderstand

Zur Bestimmung des Gesamtneuronwiderstandes wurden verschiedene Methoden verwendet:

a) Wird durch eine intrazelluläre Mikropipette Strom in die Zelle injiziert und dabei die Spannungsänderung über der Membran gemessen, so kann aus dem Verhältnis von

Spannungsänderung zu Stromstärke der Gesamtwiderstand bestimmt werden, da der Widerstand des extrazelluären Raumes und der intrazellulären Flüssigkeit zu vernachlässigen ist und der Spannungsabfall nur an der Membran stattfindet (FRANK und FUORTES, 1956). Hyperpolsarisierende und depolarisierende Rechteckströme wurden über die Mikroelektrode in die Zelle injiziert, wobei die depolarisierenden Ströme unterschwellig waren. Die Potentialänderung V wurde im Plateau (nach ca. 60 msec) gemessen und gegen den Reizstrom I aufgetragen.

b) Neben dieser Methode wurde auch die sogenannte Spikehöhen-Methode (FRANK und FUORTES, 1956) benutzt. Dabei wurde das Membranpotential in hyper- und depolarisierender Richtung verstellt und gleichzeitig die Höhe eines antidrom ausgelösten AP gemessen. Die Hyperpolarisation durfte nicht zu einer Blockierung der Überleitung führen. Es gilt dann folgende Beziehung:

$dV_s / dI = R_m - R_s$ (V_s : meßbare AP-Amplitude; I: Reizstromstärke; R_m: Membranwiderstand in Ruhe; R_s: Membranwiderstand im Gipfel des AP). Da R_s gegenüber R_m sehr klein ist, gilt: $dV_s / dI = R_m$. Voraussetzung für die Bestimmung des Membranwiderstandes mit dieser Methode ist die Verwendung kleiner Reizströme, um den Spikegenerator z. B. durch Inaktivierung des Na^+-Systems nicht zu verändern.

Ein Vergleich beider Methoden ergab keine wesentlichen Abweichungen in den Ergebnissen, was auch schon COOMBS et al. (1959)

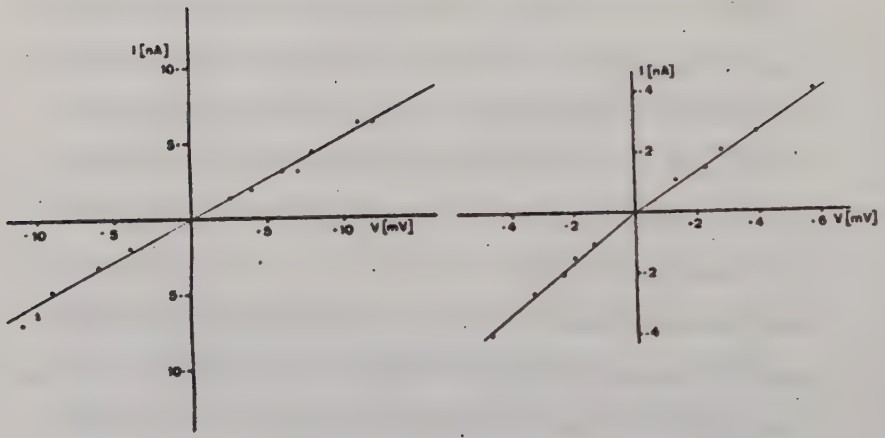

Abb. 6 :

Strom-Spannungs-Beziehung von zwei verschiedenen Motoneuronen. Ordinate: Injizierter Strom; Abszisse: Amplitude der durch die Strominjektion erzeugten elektrotonischen Potentialänderung, gemessen im Plateau nach 60 msec. Depolarisation und Auswärtsstrom haben positives Vorzeichen; V = 0 entspricht in beiden Fällen dem Ruhepotential vom 60 mV. Das links dargestellte Neuron weist eine lineare Strom-Spannungs-Beziehung auf. Aus der Steilheit der Geraden ergibt sich ein Eingangswiderstand von 1.9 MΩ. Rechts ist ein Neuron mit anomaler Gleichrichtung wiedergegeben. Im anodischen Ast beträgt der Widerstand 1.2 MΩ, im kathodischen 1.6 MΩ.

gefunden hatten. Bei den meisten Neuronen ergaben sich lineare Strom-Spannungsbeziehungen (Abb. 6, links). Bei einigen anderen Neuronen dagegen (Abb. 6, rechts) wurde allerdings eine geringe anomale Gleichrichtung festgestellt, wie sie von NELSON und FRANK (1967) als anomale Gleichrichtung beschrieben wurde. Die Mittelwerte der Eingangswiderstände an 26 Neuronen betrugen in hyperpolsarisierender Richtung: 1.8 ± 0.8 MΩ und in depolarisierender Richtung: 1.9 ± 7 MΩ. Das entspricht einem Gleichrichtungsverhältnis (AR ratio) von ungefähr 1.1 während es bei NELSON und FRANK (1967) an ausgewählten Zellen 1.8 betrug.

2. Zeitkonstante der Membran und elektrotonische Länge eines äquivalenten Zylinders.

Elektrophysiologische Daten der passiven Membraneigenschaften sind wegen der komplexen Morphologie des Motoneurons nicht einfach zu deuten. Da ein direkter Vergleich von Geometrie und physiologischen Ergebnissen in den wenigsten Fällen möglich ist (BARRETT und CRILL, 1971), versuchte RALL (1969a, 1969b) in seinem Neuronenmodell Zellsoma und Dendritenbaum in einen äquivalenten Zylinder bestimmter Länge mit Kabeleigenschaften umzuwandeln.

Das Soma ist dabei am Anfang des Zylindermodells lokalisiert, die Dendritenendigungen am Ende.

Ein im Soma applizierter Rechteckstrom lädt die Membran exponentiell auf, gleichzeitig jedoch kommt es zu Ausgleichsströmen in die Dendriten, so daß kein einfach exponentieller Potentialverlauf im Soma zu registrieren ist, sondern ein Potentialverlauf der nach RALL folgendermaßen beschrieben werden kann:

$$V(t) = C_o\, e^{-t/\tau_o} + C_1\, e^{-t/\tau_1} + C_2\, e^{-t/\tau_2} \ldots\ldots$$

Dabei ist $\tau_o = \tau_M$, die Zeitkonstante der Membran. Von den Ausgleichskonstanten ist meist nur τ_1 von Wichtigkeit. Aus dem Verhältnis von τ_M und der ersten Ausgleichszeitkonstante τ_1 kann die elektrotonische Länge des äquivalenten Zylinders bestimmt werden zu:

$$L = \frac{\pi}{\sqrt{\tau_M / \tau_1 - 1}}$$

Zur Bestimmung der Membranzeitkonstante und der elektrotonischen Länge wurde ein hyperpolarisierender Rechteckstrom intrasomal injiziert, und die Steigung (dV/dt) des elektrotonischen Potentials gegen die Zeit t aufgetragen (Abb. 7). Dabei ergibt sich für längere Zeiten ein exponentieller Verlauf mit der längsten Zeitkonstante τ_M. Bei kürzeren Zeiten (etwa 2 msec) weichen die Meßpunkte von diesem Verlauf ab. Die Differenz zwischen den Meßpunkten und der extrapolierten Zeitkonstante τ_M ergibt die erste Ausgleichszeitkonstante. Die Membranzeitkonstante betrug im Mittel 3.32 msec $\pm$ 1.45 SD. Für τ_1 ergab sich ein Wert von 0.68 $\pm$ 0.25 SD. Die elektrotonische Länge des äquivalenten Zylinders berechnet sich daraus zu L = 1.6 und ent-

spricht damit den Werten, die von anderen Autoren für spinale Motoneurone der Katze gefunden wurden (BURKE und ten BRUGGENCATE, 1971).

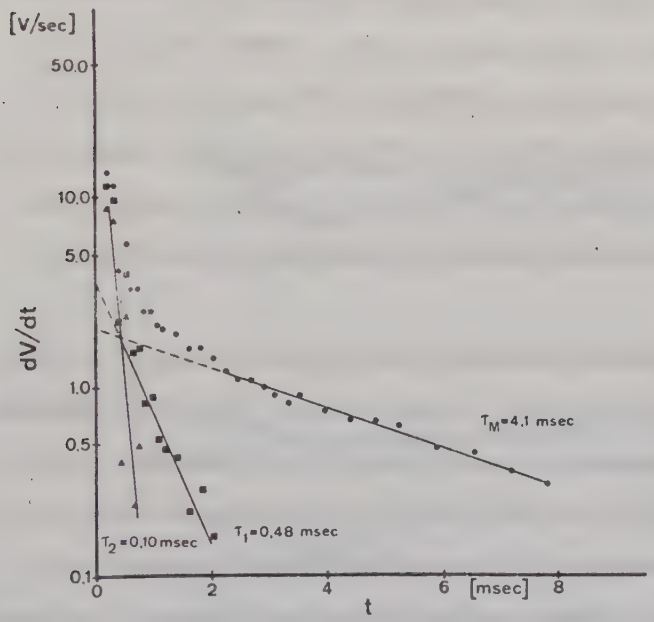

Abb. 7 : Bestimmung der Membranzeitkonstante und der Ausgleichskonstante eines Motoneurons. Ordinate: Anstiegssteilheit eines hyperpolarisierenden elektrotonischen Potentials von 7 mV, logarithmische Auftragung. Abszisse: Zeit nach Beginn des elektrotonischen Potentials. Punkte: Meßwerte; nach 2 msec liegen die Werte auf einer Geraden, aus deren Steilheit sich die Membranzeitkonstante τ_M zu 4.1 msec errechnet. Quadrate: Differenzwerte zwischen der extrapolierten Geraden und den Meßwerten bei kürzeren Zeiten. Auch hier liegen die späteren Werte auf einer Geraden, deren Steilheit die erste Ausgleichskonstante τ_1 angibt. Analog erfolgt die Bestimmung der zweiten Ausgleichskonstante τ_2 (Dreiecke).

II. NACHPOTENTIALE NACH ANTIDROMEN AKTIONSPOTENTIALEN

Bei der Untersuchung der Nachpotentiale spinaler Motoneurone durch antidrome Reizung müssen die Effekte einer rekurrenten Hemmung in Betracht gezogen werden. KUNO (1959) benutzte Dihydrobeta-erythrodine (DHE) um die Wirkung einer antidromen Hemmung auszuschließen. Die Wirkung von DHE ist jedoch schwierig abzuschätzen, besonders da die Anfangsphase der rekurrenten Hemmung davon unbeeinflußt bleibt (BROOKS und WILSON, 1958).

Die gebräuchliche Methode ist deshalb die schwellennahe Reizung der Vorderwurzel bzw. des Muskelnerven. Da bei dieser Reizmethode das Motoneuron nicht jedesmal feuert, sieht man bei unterschwelliger Reizung den Effekt, den die Erregung der benachbarten Motoneurone auf das untersuchte Motoneuron ausübt, und ein andermal bei überschwelliger Reizung eine Überlagerung der Motoneuronantwort auf diesem Hintergrund (Abb. 8). Diese Maßnahme ist deshalb sinnvoll, weil die Axonkollateralen nicht speziell am selben Neuron eine Hemmung hervorrufen. Die Reizstärke wurde während der Ableitung öfter nachgestellt.

Ableitungen von Motoneuronen bei denen auch bei schwellennaher Reizung noch ein IPSP zu sehen war, wurden für die quantitative Auswertung der Nachpotentiale und für die Leitfähigkeitsmessungen während der Nachpotentiale nicht herangezogen.

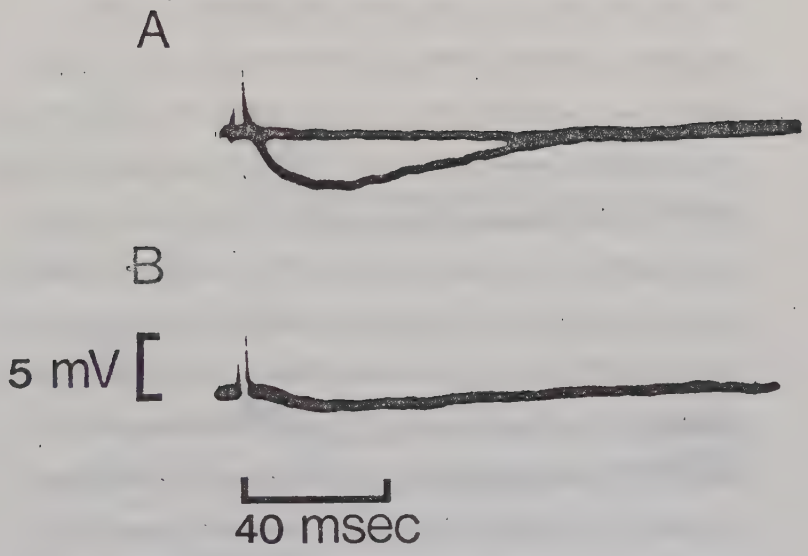

Abb. 8 :

Nachpotentiale nach einem antidromen Aktionspotential bei Ableitung vom Soma (A) und einer motorischen Faser (B). In A je ein Durchlauf nach unter- bzw. überschwelliger Reizung.

A. Nachdepolarisation

Im Anschluß an die schnelle Repolarisationsphase des SD-Spikes tritt beim Motoneuron der Katze in etwa 50 % der Zellen eine kurze Nachdepolarisation auf (KERNELL, 1964; NELSON und BURKE, 1967). Bei Rattenmotoneuronen hingegen ist fast immer eine NDP abzuleiten (GRANIT et al., 1963a). Um den Mechanismus, der dieser Depolarisation zugrunde liegt, nicht vorwegzunehmen, wurde von einigen Autoren der neutralere Begriff "delayed depolarization" (DD) benutzt. Als Mechanismus wurde eine aktive Spikefortleitung in die Dendriten vermutet (GRANIT et al., 1963a; KERNELL, 1964; NELSON und BURKE, 1967). GRANIT et al. (1963 a) beschrieben das Verhalten der DD während repetitiver Entladung bei Rattenmotoneuronen. Sie äußerten die Ansicht, daß bei Rattenmotoneuronen die initiale repetitive Entladung bei intrazellulärer Reizung hauptsächlich durch die DD und wenig durch die Nachhyperpolarisation bestimmt wird, bei Motoneuronen der Katze dagegen schon von Anfang an fast ausschließlich durch die Hyperpolarisation. Um diese Vermutung zu untersuchen und die Bedeutung für die repetitive Entladung zu klären, wurde die NDP näher untersucht. Eine NDP wurde in weniger als der Hälfte der Neurone gesehen. Zwei verschiedene Formen wurden beobachtet, meist war die NDP deutlich abgesetzt von der schnellen Repolarisation (Abb. 9 A; Typ I nach KERNELL,

1964), weniger häufig mit glattem Übergang (Typ II). Je nach Zustand der Zelle konnte eine Form in die andere übergehen. Bei

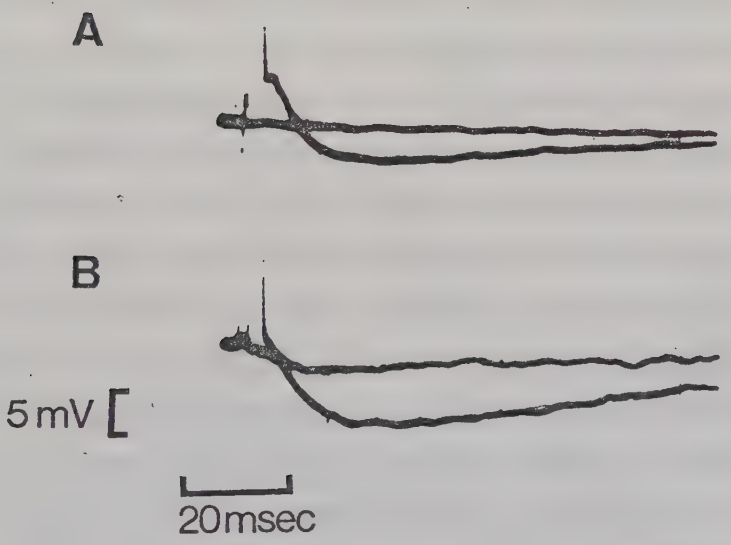

Abb. 9 :

Nachpotentiale von zwei verschiedenen Motoneuronen ohne antidrome Hemmung (A) und mit antidromen IPSP (B). In A Beispiel für ein Motoneuron mit NDP. In A und B weils ein Durchlauf bei unter- bzw. überschwelliger antidromer Reizung.

Depolarisation, spontan oder durch Membranpotentialverstellung wurde der Buckel etwas deutlicher, bei Hyperpolarisation undeutlicher und manchmal konnte bei stärkerer Hyperpolarisation überhaupt keine NDP mehr festgestellt werden.

Die Dauer der NDP, vom Spikebeginn bis zum Übergang in die Hyperpolarisation gemessen, lag zwischen 2.0 und 5.5 msec und im Mittel bei 3.5 msec. Die Amplitude reichte vom 0 bis 9 mV. Nach einem isolierten IS-Spike, bei Blockierung der Erregungsüberleitung durch Hyperpolarisation, oder durch antidrome Konditionierung, trat nie eine NDP auf (Abb. 18). Die Interaktion der NDP mit synaptischen Potentialen wurde nicht eigens untersucht. Jedoch fand sich bei Motoneuronen, bei denen eine antidrome Hemmung auch bei schwellennaher Reizung vorhanden war, fast nie eine NDP (Abb. 9B). Ein Alles-oder-Nichts-Verhalten bei antidrom repetitiver Erregung (NELSON und BURKE, 1967) konnte nicht beobachtet werden, eher schien eine abgestufte Änderung der NDP-Amplitude zu erfolgen. Bei repetitiven antidromen Aktionspotentialen nahm die Amplitude der NDP mit dem zweiten AP ab.

B. Nachhyperpolarisation

An die NDP bzw. direkt an die schnelle Repolarisation des SD-Spikes schließt sich eine langdauernde Hyperpolarisation (NHP) an (BROCK et al., 1952). Die NHP endet mit einer späten Depolarisation von kleiner Amplitude (0.2 bis 0.4 mV; ECCLES et al., 1958).

Durch die oben angegebene Methode der schwellennahen Reizung wurde versucht, rekurrente Hemmungseffekte auszuschließen. Motoneurone, bei denen unter diesen Bedingungen noch ein antidromes IPSP registriert wurde, wurden für die Auswertung nicht berücksichtigt, obwohl z. B. für die Bestimmung der Dauer der NHP diese inhibitorischen Effekte nicht ins Gewicht fallen, da in diesen Messungen die Dauer eines rekurrenten IPSP zwischen 40 und 50 msec lag (Abb. 9 B); COOMBS et al., (1955) trennten die NHP von der Gesamthyperpolarisation durch Subtraktion des unterschwelligen rekurrenten IPSP. Da in der weiteren Untersuchung die Leitfähigkeitsänderung während der NHP untersucht wurde, konnte diese Methode hier nicht angewendet werden. Die meisten Ableitungen stammen von den größeren Zellen des Gastrocnemius-Kerns, die weit weniger antidrome Hemmungseffekte aufweisen (KUNO, 1959) als die kleineren Soleus-Neurone. Deshalb war der Anteil der Motoneurone ohne erkennbares IPSP größer als 75 %.

Die Dauer der NHP wurde vom AP-Beginn bis zum Maximum der kleinen späten Depolarisation gemessen. Wenn auch manchmal die späte Depolarisation schwer zu erkennen war, so erschien diese Methode doch genauer, als den Zeitpunkt der Rückkehr zum Ausgangspotential zu bestimmen. Eine Verteilung der so bestimmten NHP-Dauer von 80 Motoneuronen ist in Abb. 10 B wiedergegeben. Die meisten Neurone zeigen eine NHP-Dauer zwischen 70 bis 100 msec, mit einem Maximum bei 90 bis 100 msec (Mittel

97 ± 25 mV SD). Obwohl nicht alle Motoneurone durch Reizung der Muskelnerven direkt identifiziert werden konnten, kann aus dieser

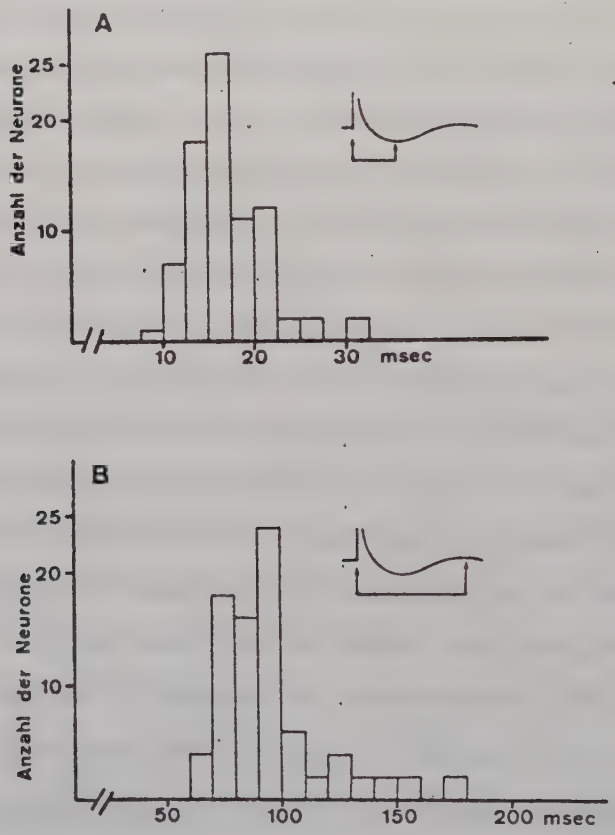

Abb. 10 : Histogramm der Nachpotentiale von 80 Motoneuronen.
A: Dauer bis zum Maximum der NHP
B: Dauer bis zur späten Nachdepolarisation (Dauer der NHP)
Die Messung in A und B stammen von denselben Motoneuronen.

Verteilung der NHP-Dauer geschlossen werden, daß hauptsächlich von Gastrocnemius-Motoneuronen stabile IPSP freie Ableitungen möglich waren (ECCLES et al., 1958; KUNO, 1959).

Die Zeit vom AP-Beginn bis zum Maximum der NHP (Gipfelzeit) ist in der Abb. 10 A wiedergegeben. Das Maximum der Verteilung lag zwischen 15 bis 17.5 msec (Mittelwert: 15.6 $\pm$ 4.3 SD). Es sollte untersucht werden, ob es eine Korrelation zwischen der Dauer bis zum Maximum und der Gesamtdauer der NHP gibt, da einige frühere Arbeiten eine enge Beziehung zwischen beiden Werten fanden (ECCLES et al., 1958; KUNO, 1959) andere dagegen nicht (KERNELL, 1965 c) und da außerdem in der Literatur zwei unabhängige Mechanismen gefordert wurden, die der NHP zugrundeliegen (SCHWINDT und CALVIN, 1972). Abb. 11 zeigt, daß das Verhältnis zwischen beiden Werten beträchtlich schwankt (Korrelationskoeffizient: + 0.21; HASELOFF und HOFFMANN, 1965). Motoneurone mit kurzer NHP-Gesamtdauer konnten danach sowohl eine kurze als auch längere Gipfelzeit besitzen, bei Neuronen mit langer NHP-Dauer schien jedoch die Gipfelzeit ebenfalls länger zu sein. Zu beachten ist jedoch, daß nur wenige Neurone mit langer NHP-Dauer abgeleitet wurden und daher diese Aussage nicht genügend gesichert ist. In einigen Versuchen wurden die Nachpotentiale antidrom und intrazellulär ausgelöster AP's verglichen. Die beschriebenen Parameter unterschieden sich dabei nicht. Die maximale Amplitude der NHP betrug 4.9 mV $\pm$ 2.7 SD

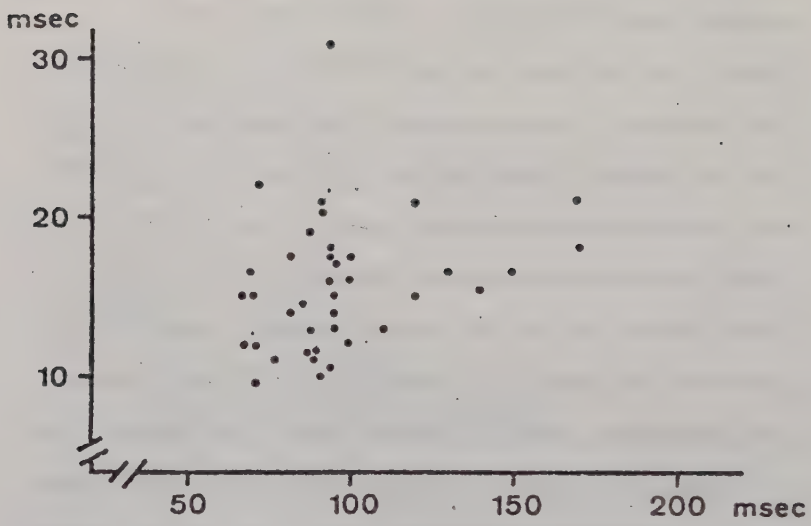

Abb. 11 :

Beziehung zwischen Dauer der NHP (Abszisse) und Zeit bis zum Maximum der NHP (Ordinate).
Korrelationskoeffizient r = + 0.209.

(n = 29). Im Vergleich dazu findet sich bei medullären Faserableitungen, wie an der peripheren Fasern, eine sehr viel kleinere NHP. Am Motoneuron zeigt die Amplitude der NHP eine lineare Abhängigkeit vom Membranpotential der Zelle. Sie steigt bei Depolarisation bzw. fällt bei Hyperpolarisation. Die Beziehung zwi-

schen NHP-Amplitude und MP wurde an zwei verschiedenen Motoneuronen gemessen und war in beiden Fällen linear (Abb. 12). Bei stärkerer Hyperpolarisation wurde die Erregungsüberleitung vom

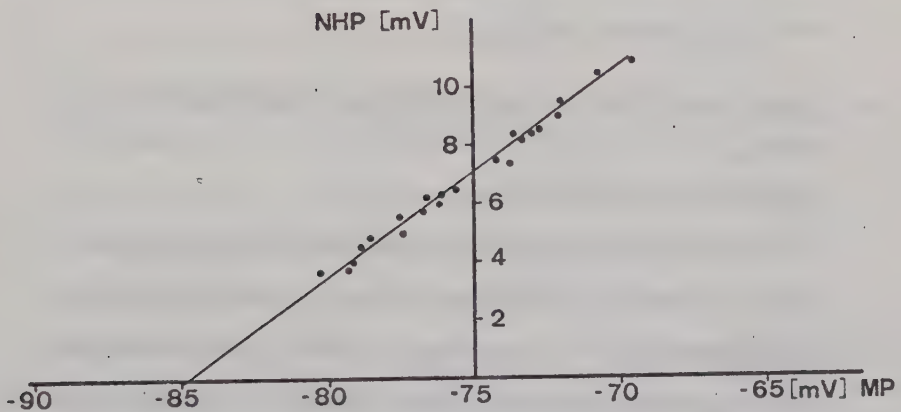

Abb. 12 :

Abhängigkeit der NHP-Amplitude eines Neurons vom Membranpotential. Das Membranpotential wurde durch de- bzw. hyperpolarisierende Ströme um maximal 6 mV verändert. Nach 50 msec wurde das AP durch antidrome Reizung ausgelöst. Das Gleichgewichtspotential der NHP, bestimmt durch Extrapolation betrug -85 mV.

Initialsegment zum Soma blockiert, jedoch ließ sich aus der Extrapolation dieser Funktion das Gleichgewichtspotential zu -85 mV bestimmen. Dieser Wert ist in Übereinstimmung mit dem von COOMBS et al. (1955) angegebenen Mittelwert von -89 mV und fällt mit dem K^+-Gleichgewichtspotential zusammen, was durch Änderung der intrazellulären K^+-Konzentration von COOMBS et al. (1955) nachgewiesen wurde.

III. LEITFÄHIGKEITSÄNDERUNGEN WÄHREND DER NACHPOTENTIALE

Messung der Leitfähigkeit

Der Verlauf der Leitfähigkeitserhöhung während des Nachpotentials wurde mittels hyperpolarisierender Stromimpulse (Dauer ca. 5 bis 7 msec; 4 bis 8 nA) gemessen, die durch die Glasmikroelektrode intrazellulär appliziert wurden. Die dadurch erzeugte Potentialänderung ist ein Maß für den Widerstand bzw. die Leitfähigkeit der Membran (MOORE und del CASTILLO, 1959; MEVES, 1960; ITO und OSHIMA, 1962; BALDISSERRA und GUSTAFSSON, 1970). Die Amplitude der Stromimpulse wurde möglichst klein gehalten, um die Nachpotentialmechanismen nicht zu beeinflussen. Die Dauer der kurzen Stromimpulse wurde so gewählt, daß sie über der Zeitkonstante der Membran lag ($\tau_M \approx 3.3$ msec) und die Potentialänderung in dieser Zeit damit über 80 % des Plateauwertes erreicht hatte.

Die Leitfähigkeit ändert sich im Verlauf des Nachpotentials besonders rasch am Anfang. Deshalb wurde die Dauer der Pulse nicht länger gewählt und aus dem gleichen Grund am Anfang des Nachpotentials besonders kleine Meßschritte gewählt.

Ein Registrierbeispiel gibt Abb. 13 wieder. Es wurden ebenso Kontrollmessungen mit depolarisierenden Stromimpulsen an zwei Neuronen durchgeführt, die vergleichbare Ergebnisse erbrachten (Abb. 15). Die hyperpolarisierende Richtung wurde bevorzugt, um keine lokale Antwort durch Depolarisation hervorzurufen. Außerdem sollten keine K^+-Ionen der Elektrodenflüssigkeit in die Zellen injiziert werden, da ja der NHP-Mechanismus auf einer K^+-Leitfähigkeitsänderung beruht (COOMBS et al., 1955).

Die Amplitude der Potentialauslenkung wurde am Ende des kurzen Stromimpulses gemessen. Falls das Kontrollnachpotential nicht gleichzeitig mit registriert wurde, wurde später bei der Auswertung die Potentialabweichung vom Kontrollnachpotential durch Superposition bestimmt. Dadurch konnte auch sichergestellt werden, daß der weitere Potentialverlauf nach dem Stromimpuls nicht von der Kontrolle abwich.

In Voruntersuchungen wurden manchmal repetitive Impulse mit einer Frequenz bis zu 40 Hz während der NHP appliziert, später jedoch nur noch Einzelimpulse mit verschiedener zeitlicher Latenz, weil ein Einfluß auf den NHP-Mechanismus durch die repetitiven

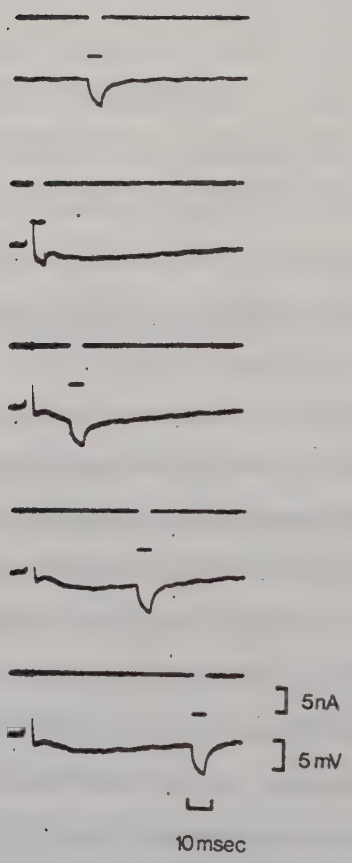

Abb. 13 :

Registrierbeispiel für die Messung der Leitfähigkeitsänderung nach antidromem Aktionspotential. Obere Registrierung: Elektrotonisches Potential ohne vorausgegangenes AP. Alle anderen Registrierungen: Elektrotonische Potentiale, ausgelöst zu verschiedenen Zeiten nach dem antidromen AP. Hyperpolarisierender Stromimpuls: 7.5 nA; 6 msec.

Stromimpuls nicht auszuschließen war.

A. LEITFÄHIGKEITSVERLAUF NACH EINEM ANTIDROMEN SPIKE

Die mit der beschriebenen Methode gewonnenen Ergebnisse wurden folgendermaßen ausgewertet:

Die Änderung des Ruhepotentials durch den Stromimpuls wurde als ΔV_R, die Potentialänderung zur Zeit t des Nachpotentials als ΔV_t bezeichnet. Die Änderung $\Delta V_R - \Delta V_t$ wurde auf den Ruhewert ΔV_R bezogen, also $\frac{\Delta V_R - \Delta V_t}{\Delta V_R}$. Die größtmögliche Zunahme der Leitfähigkeit, wenn mit dieser Methode also $\Delta V_t = 0$, wurde als 100 % angenommen. Keine Änderung der Leitfähigkeit gegenüber dem Ruhewert $\Delta V_R = \Delta V_t$ wäre nach dieser Überlegung 0 %. Diese prozentuale Änderung der Leitfähigkeit $\frac{\Delta V_R - \Delta V_t}{\Delta V_R} \cdot 100$ wurde logarithmisch (Ordinate) gegen die Zeit t während der Nachpyperpolarisation aufgetragen. Diese Auftragungsweise wurde auch deshalb gewählt, um einen Vergleich mit den Ergebnissen aus der Literatur leichter zu ermöglichen (BALDISSERRA und GUSTAFSSON, 1970). Im zeitlichen Verlauf der Leitfähigkeit schließt sich an den sehr schnellen Abfall während der Repolarisationsphase eine langsamer abfallende Plateau-Phase an, die dann bei längeren Zeiten von einer schnelleren exponentiellen Abnahme gefolgt ist (Abb. 14). Es läßt sich also kein einfach exponentieller Abfall nach einem antidromen Aktionspotential erkennen, wie er in Motoneuron-Modellen gefordert wurde, die auf den voltage clamp Glei-

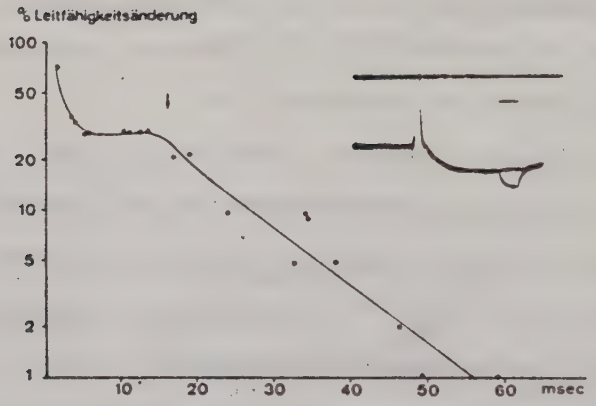

Abb. 14 :

Änderung der Membranleitfähigkeit nach einem antidromen Aktionspotential. Ordinate $\frac{\Delta V_R - \Delta V_t}{\Delta V_R} \cdot 100$; log. aufgetragen.

ΔV_R : Potentialänderung durch Stromimpuls bei Ruhepotential.

ΔV_t : Potentialänderung durch Stromimpuls zur Zeit t des Nachpotentials.

Die größtmögliche Zunahme der Leitfähigkeit ist dann gegeben, wenn bei dieser Methode $\Delta V_t = 0$; sie wurde gleich 100 % gesetzt. Keine Änderung der Leitfähigkeit gegenüber dem Ruhewert ($\Delta V_R = \Delta V_t$) entspricht 0 %. Diese prozentuelle Änderung der Leitfähigkeit wurde logarithmisch gegen die Zeit t (Abszisse) aufgetragen. t = 0 ist der Spikebeginn.

Einsatzbild: hyperpolarisierender Stromimpuls (oben), antidromes AP mit Potentialänderung während der NHP. Spike-Intervall beim Übergang vom primary zum secondary range aus Abb. 27 zum Vergleich mit Pfeil markiert.

chungen des peripheren Nerven basieren (KERNELL und SJÖHOLM, 1972).

Diese Plateau-Phase war bei manchen Zellen weniger stark ausgeprägt, bei manchen fehlte sie fast vollständig (Abb. 15). An einigen Zellen ohne Plateau ließ sich auch kein "secondary range" bei der repetitiven Entladung erkennen. Eine Beziehung zum Vorhandensein oder Abwesenheit einer NDP konnte nicht aufgestellt werden. Auch eine längere Gipfelzeit der NHP war bei den Zellen mit deutlichem Plateau nicht zu finden (BALDISSERRA und GUSTAFSSON, 1971 b) eher schien die Zeitkonstante des späten exponentiellen Abfalls bei diesen Zellen kleiner zu sein (< 20 msec).

Bei Neuronen, die ein deutliches Plateau aufwiesen, lag das Ende der Plateau-Phase bei 20 msec $\pm$ 4.4 SD (n = 11). Ein Beginn der Plateau-Phase ließ sich nicht so leicht bestimmen, lag jedoch im Bereich von 5 msec. Die Zeitkonstante des exponentiellen Abfalls in der späten Phase war bei diesen Zellen zwischen 12 und 21 msec.

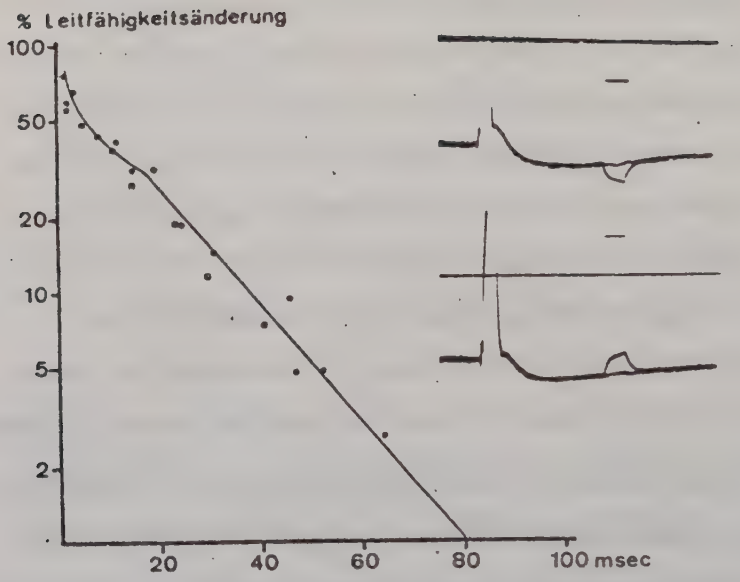

Abb. 15 :

Leitfähigkeitsänderung nach antidromem AP gemessen mit hyperpolarisierenden (Punkte) und depolarisierenden (Quadrate) Stromimpulsen. Ordinate und Abszisse siehe Abb. 14. Beide Messungen wurden am selben Neuron durchgeführt.

B. LEITFÄHIGKEITSÄNDERUNG BEI REPETITIVEN ANTIDROMEN AKTIONSPOTENTIALEN

ITO und OSHIMA (1962) fanden, daß es nach einer Salve von wenigen Aktionspotentialen zu einer Summation der Leitfähigkeit kommt. Ebenso wurde von BALDISSERRA und GUSTAFSSON (1971) eine erhöhte Leitfähigkeit nach einem zweiten Aktionspotential nachgewiesen. Der zeitliche Verlauf der Leitfähigkeitsänderung bei Summation wurde jedoch noch nicht beschrieben. Deshalb wurde eine Salve von 3 bis 5 antidromen Aktionspotentialen ausgelöst und der zeitliche Verlauf der Leitfähigkeit nach dem jeweils letzten AP studiert. Die Reizfrequenz konnte bei einer so kurzen Salve über 50 Hz betragen, ohne daß es dabei zu einer Überleitungsblockierung kam. Abb. 16 zeigt den Leitfähigkeitsverlauf nach dem ersten, dem dritten und dem fünften Spike bei einer Reizfrequenz von 50 Hz. Deutlich ist bei dieser Zelle während des ersten Nachpotentials ein Plateau in der frühen Phase zu erkennen. Wie bei den meisten Zellen liegt die prozentuelle Leitfähigkeitsänderung während dieser Phase etwa bei 30 %. Die Zeitkonstante des exponentiellen Abfalls beträgt τ_1 = 20 msec. Deutlich ist die Leitfähigkeitserhöhung nach dem dritten AP zu erkennen. Gleichzeitig flacht das Plateau ab und die Zeitkonstante des exponentiellen Abfalls wird etwas größer (τ_3 = 25 msec). Der Übergang von der Plateau-Phase zum exponentiellen Teil bleibt etwa gleich bei 23 msec. Nach dem fünften Aktionspoten-

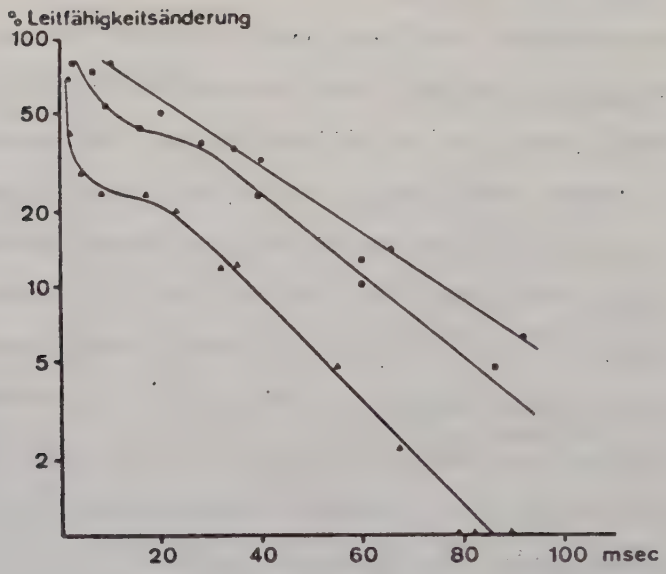

Abb. 16 :

Leitfähigkeitsänderung während der NHP bei repetitiv antidromer Reizung (50 Hz) nach dem ersten AP (Dreiecke), nach dem dritten (Quadrate) und nach dem fünften AP (Punkte). Die Zeitkonstanten des exponentiellen Abfalls sind : τ_1 = 20 msec, τ_2 = 25 msec, τ_3 = 30 msec. Ordinate und Abszisse: siehe Abb. 14.

tial erhöht sich die Leitfähigkeit nur noch geringfügig (z.B. bei 40 msec: erstes AP: 9 %, drittes AP: 23 %, fünftes AP: 29 %, bei 20 msec jedoch ist der Summationseffekt durch das Verschwinden des Plateaus noch etwas höher). Über den gesamten Bereich ist

nach dem fünften AP ein exponentieller Verlauf zu erkennen (τ = 30 msec).

Bei einer niedrigeren Reizfrequenz sind die geschilderten Effekte (Erhöhung der Leitfähigkeit, Verschwinden des Plateaus) weniger deutlich (Abb. 17, Reizfrequenz 25 Hz).

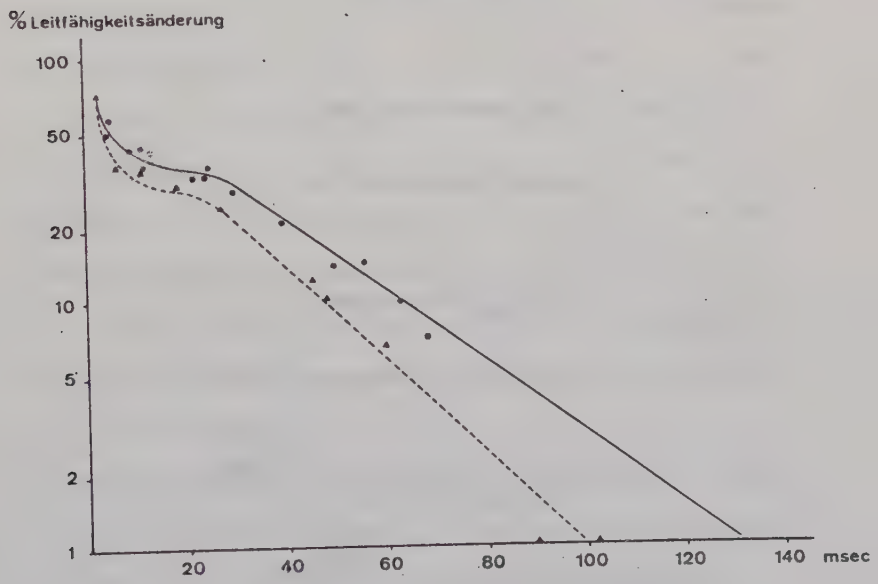

Abb. 17 :

Leitfähigkeitsänderung während der NHP bei repetitiv antidromer Reizung (25 Hz) nach dem ersten AP (Dreiecke) und zweiten (Punkte). Deutlich ist die geringere Summation gegenüber Abb. 16. Ordinate und Abszisse: siehe Abb. 14.

Bei repetitiver antidromer Reizung kommt es zuweilen zu einer Blockierung des SD-Spikes. Leitfähigkeitsänderungen lassen sich bei einem isolierten IS-Spike nicht mehr nachweisen, auch ein Summationseffekt wird dann nicht gesehen (Abb. 18).

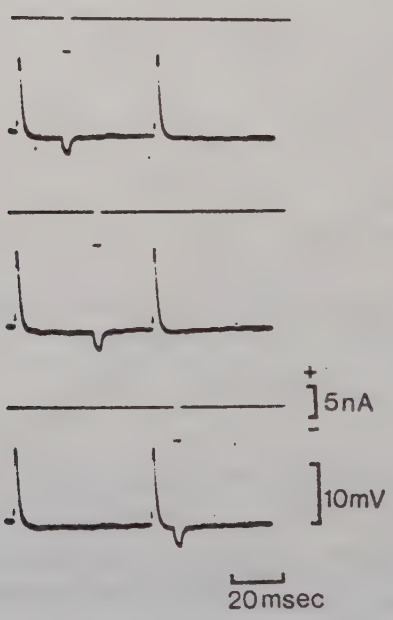

Abb. 18 :

Registrierbeispiele einer Leitfähigkeitsmessung bei reptitiven antidromen IS-Spikes. Die Erregungsüberleitung war spontan blockiert. Es ist keine Leitfähigkeitsänderung zu bemerken. In der oberen Registrierung scheint die Amplitude des elektrotonischen Potentials etwas kleiner zu sein als in den beiden anderen Registrierungen; das liegt am unvollkommenen Abgleich des Elektrodenwiderstandes.

C. LEITFÄHIGKEITSÄNDERUNGEN BEI INTRAZELLULÄR AUSGELÖSTER REPETITIVER SPIKEAKTIVITÄT

Die durch intrazelluläre Rechteckströme ausgelöste repetitive Aktivität ist vergleichbar mit der Entladungstätigkeit bei kontinuierlicher synaptischer Depolarisation bei einer Reflexentladung (GRANIT und RENKIN, 1961). Die Messung der Leitfähigkeit während der Spike-Intervalle sollte die Bedeutung des Leitfähigkeitsverlaufes für die physiologische repetitive Entladungsweise klären. Wieder wurden kurze hyperpolarisierende Stromimpulse bei verschiedenen Latenzen während der intrazellulären Reizung mit Rechteckströmen appliziert. Bei der Auftragung als prozentuelle Leitfähigkeitsänderung gegen die Zeit konnte als Kontrollwert ΔV_R nur dann verwendet werden, wenn der Gesamtwiderstand der Zelle keine Gleichrichtung aufwies (Die Zelle in Abb. 19 hatte keine Gleichrichtung).

Zur Bestimmung der Leitfähigkeitsänderung nach dem ersten AP wurde die Reizstärke so gewählt, daß das Neuron im "primary range" feuerte. So konnte die Messung während möglichst langer Spike-Intervalle verfolgt werden. Auch bei dieser Reizart wird ein Plateau sichtbar. Es flacht jedoch nach dem zweiten Spike-Intervall deutlich ab. Wiederum nimmt die Zeitkonstante des Abfalls nach dem zweiten Aktionspotential zu (von $\tau_1 = 13$ auf $\tau_2 = 26$). Das Ende der Plateau-Phase und der anschließende Übergang in den exponentiellen Abfall liegen etwa zur gleichen Zeit

(bei 28 msec).

In Übereinstimmung mit den Befunden bei repetitiv antidromen Aktionspotentialen finden sich also auch hier folgende Veränderungen im Leitfähigkeitsverlauf während einer Salve:

Erhöhung der Leitfähigkeit (Summation), zunehmende Abflachung der Plateau-Phase, geringe Zunahme der Rückkehr-Zeitkonstante.

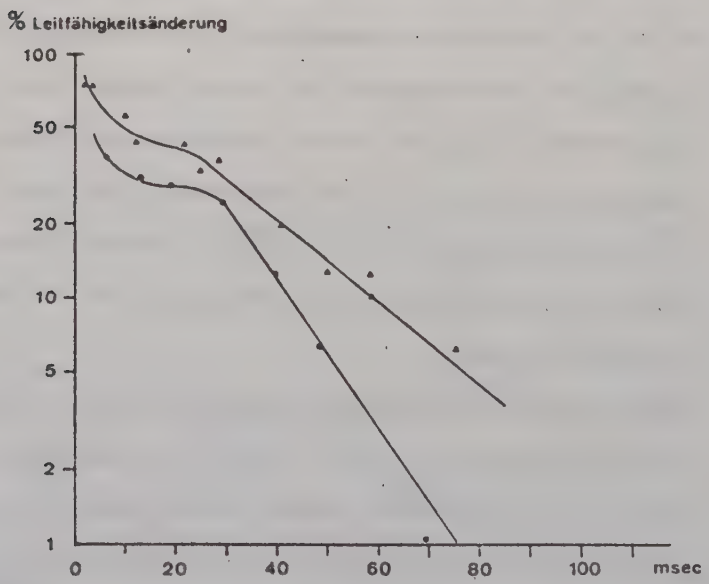

Abb. 19 :

Leitfähigkeitsänderung während des ersten (Punkte) und zweiten (Dreiecke) Nachpotentials bei intrazellulärer Reizung mit depolarisierenden Rechteckströmen (τ_1 = 13 msec, τ_2 = 26 msec). Ordinate und Abszisse: siehe Abb. 14.

D. LEITFÄHIGKEITSÄNDERUNGEN NACH EINEM ANTIDROMEN AP BEI VERSTELLUNG DES MEMBRANPOTENTIALS IN HYPERPOLARISIERENDER RICHTUNG

BALDISSERRA und GUSTAFSSON (1970) stellten eine Potentialabhängigkeit der Leitfähigkeit nach einem antidromen AP fest. Sie fanden eine Erhöhung bei Depolarisation und eine Erniedrigung bei Hyperpolarisation. Allerdings bezog sich ihre Messung nur auf einen Zeitpunkt der NHP (9 msec) und außerdem nur auf ein Motoneuron. Um diese Potentialabhängigkeit der Leitfähigkeit und den Entstehungsmechanismus der Plateau-Phase, die in den vorangegangenen Abschnitten beschrieben wurde, näher zu untersuchen, wurde das Membranpotential in hyperpolarisierender Richtung verstellt und der Einfluß auf den gesamten Leitfähigkeitsverlauf nach einem antidromen Spike untersucht. Gleichströme von 120 bis 200 msec Dauer wurden zur Verstellung des Membranpotentials verwendet und 30 bis 50 msec nach Beginn der MP-Verstellung ein antidromes AP ausgelöst. Die MP-Verstellung betrug nur wenige mV, da bei zu starker Hyperpolarisation die antidrome Spike-Überleitung blockiert wird. Bei einigen Zellen wurde auch eine leichte unterschwellige Depolarisation vorgenommen. Vollständige Meßreihen bei verschiedenen Membranpotentialen in de- und hyperpolarisierender Richtung konnten an einer Zelle nicht durchgeführt werden, da die Motoneurone vorher depolarisierten und verloren gingen. Abb. 20 zeigt den zeitlichen Verlauf der Leitfähigkeit bei Ruhepotential

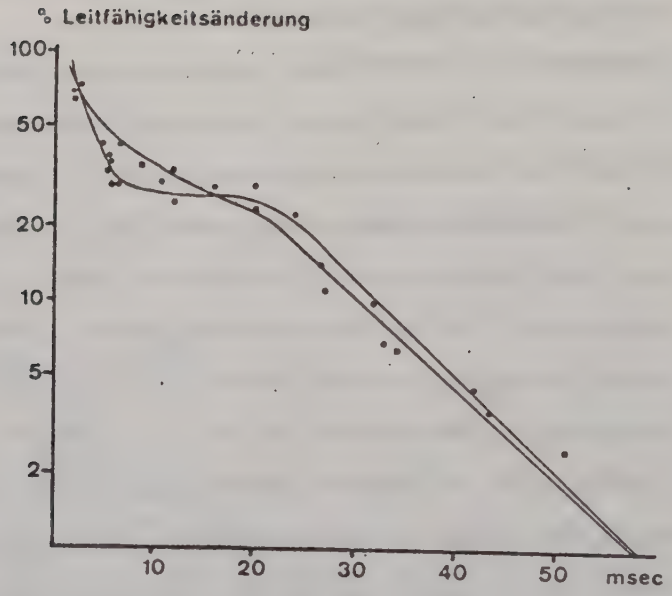

Abb. 20 :

Leitfähigkeitsänderung nach antidromem AP bei Ruhepotential (Punkte) und Hyperpolsarisation um 5 mV (Quadrate). Die Zelle zeigte leichte anomale Gleichrichtung (R_{dep} = 1.6 MΩ; R_{hyp} = 1.2 MΩ. Ordinate und Abszisse: siehe Abb. 14.

der Zelle (Punkte) und bei Hyperpolarisation (Quadrate) um 5 mV. Dabei ergibt sich in der späten Phase kein Unterschied im Verlauf der Leitfähigkeit. Ein deutliches Abweichen beider Kurven ist jedoch zur Zeit der Plateau-Phase festzustellen. Bei Hyperpolarisation ist die Leitfähigkeitsänderung bis etwa 18 msec nach Spikebeginn höher, und

ein Plateau nicht mehr zu erkennen.

Die gleiche Messung wurde an einer anderen Zelle zu drei verschiedenen Zeiten nach dem AP ausgeführt (6 msec, 15 msec und 31 msec). In Abb. 21 sind die gemessenen Leitfähigkeitsänderungen gegen das Membranpotential aufgetragen. Bei 15 msec und 31 msec ergibt sich keine Potentialabhängigkeit. Dagegen ist bei 6 msec eine erhöhte Leitfähigkeitsänderung (kleinerer Widerstand) bei Hyperpolarisation und eine niedrigere Leitfähigkeit (höherer Widerstand) bei Depolarisation zu sehen.

Diese Zelle wies eine leichte Rektifikation auf (R_{dep} = 1.6 MΩ = R_{hyp} = 1.2 MΩ).

Der beschriebene Effekt, nämlich eine erhöhte Leitfähigkeit während der ersten Phase der NHP, wurde nicht bei allen untersuchten Zellen gefunden. Bei einigen ergab sich keine Änderung des Verlaufs.

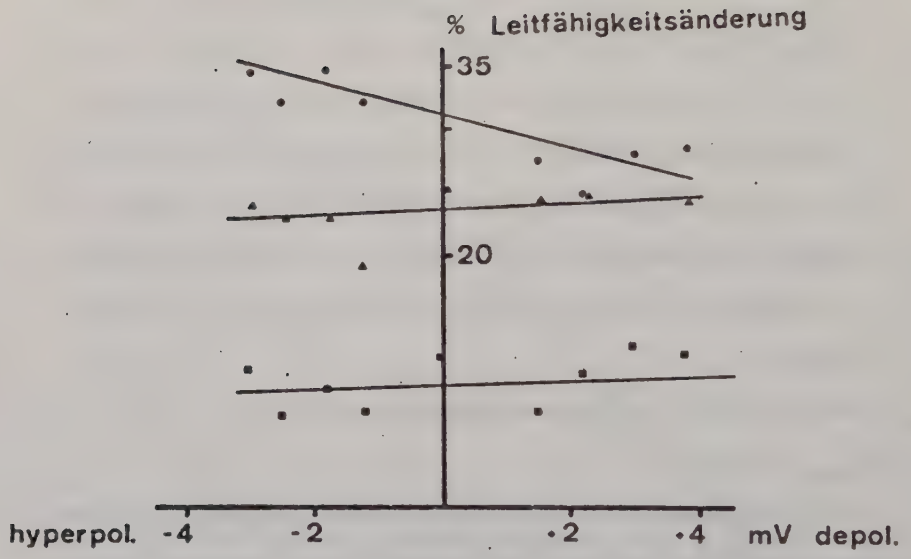

Abb. 21 :

Leitfähigkeitsänderungen während der NHP in Abhängigkeit vom Membranpotential vor der Auslösung des AP's. Das Membranpotential des Motoneurons wurde durch de- bzw. hyperpolarisierende Ströme um die auf der Abszisse aufgetragenen Werte verstellt; nach 50 msec wurde ein antidromes AP ausgelöst und 6 (Punkte), 15 (Dreiecke) und 31 (Quadrate) msec nach Beginn des AP's ein kurzer hyperpolarisierender Stromimpuls appliziert. Die dadurch hervorgerufenen elektrotonischen Potentiale sind auf der Ordinate analog Abb. 14 aufgetragen. Man sieht, daß nur 6 msec nach dem AP eine Potentialabhängigkeit der Membranleitfähigkeit nachweisbar ist.

IV. REPETITIVES ENTLADUNGSVERHALTEN BEI INTRAZELLULÄRER REIZUNG

A. Minimale Entladungsfrequenz

Während der intrazellulären Applikation von depolarisierenden Rechteckströmen kam es etwa 1.3 bis 1.5-facher Rheobasenreizstärke zu einer anhaltenden repetitiven Entladung, bei der die Spikefrequenz am Anfang höher war und schon nach den ersten Aktionspotentialen auf einen niedrigeren, annähernd konstant bleibenden Wert abfielen (Abb. 22).

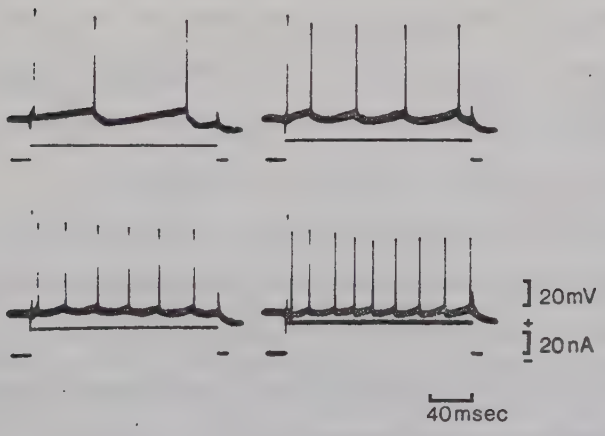

Abb. 22 :
Registrierbeispiele repetitiver Aktivität bei intrazellulärer Reizung mit Rechteckströmen verschiedener Amplitude. Jeweils oben Potentialregistrierung, unten Stromregistrierung. Alle Registrierungen stammen von einem Neuron.

Wurde die Stromstärke in diesem Punkt nur wenig vermindert, so hörte diese regelmäßige repetitive Entladung auf.

Die minimale repetitive Entladungsfrequenz betrug nach 5 bis 6 Aktionspotentialen 15 bis 47/sec. Das Mittel lag bei 26/sec ± 10 SD (n = 11). Für das erste und zweite Spikeintervall betrug die minimale Entladungsfrequenz 20/sec ± 7 SD bzw. 21/sec ± 8 SD (n = 11).

B. Entladung im "primary range".

Bei Erhöhung der Reizstärke von der Schwelle der repetitiven Entladung aus, nahm die Entladungsfrequenz zu. Es ergab sich im Anfangsteil eine lineare Reizstromstärke-Frequenz-Beziehung und zwar sowohl für das erste als auch für alle folgenden Spikeintervalle. Diese lineare Beziehung am Anfang nannten GRANIT et al. (1963 b) "primary range" (Abb. 23).

Dabei war die Steigung dieses "primary range" für das erste Spikeintervall am größten und nahm in den folgenden Intervallen auf einen kleineren schließlich konstant bleibenden Wert ab. Die mittleren Steilheiten ("gain") für die verschiedenen Spikeintervalle gibt die Tabelle 2 wieder.

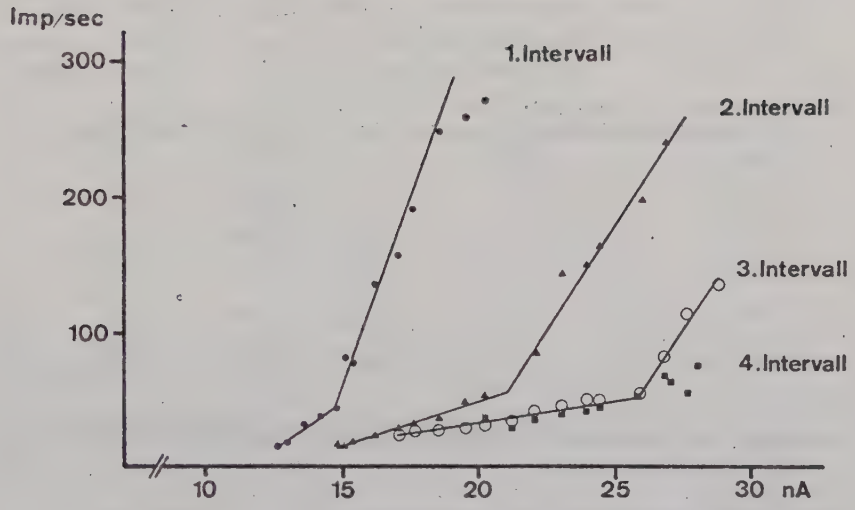

Abb. 23 :

Reizstärke-Frequenz-Beziehung eines Motoneurons bei intrazellulärer Reizung mit Rechteckströmen für das erste (Punkte), zweite (Dreiecke), dritte (Kreise) und vierte (Quadrate) Spike-Intervall. Die Steilheit des "primary" und "secondary range" verringert sich im Lauf der ersten Intervalle. Der Übergang vom "primary" zum "secondary range" findet immer bei etwa derselben Frequenz statt.

Tabelle 2

Mittelwert der Steilheiten des primary range für die ersten Spike-Intervalle

Spike-Intervall	Steigung des "primary-range" Imp. $sec^{-1} \cdot nA^{-1}$	SD	n
1.	8.0	± 3.1	11
2.	3.8	± 2.2	11
3.	3.2	± 1.4	10
4.	2.7	± 1.2	10
5.	2.2	± 0.6	6
6.	1.9	± 0.5	6
7.	1.8	± 0.5	5

Diese lineare Reizstärke-Frequenz-Beziehung geht bei einer bestimmten Frequenz mit einem deutlichen Knick in eine zweite steilere lineare Beziehung, den "secondary range" (GRANIT et al., 1963b) über. Bemerkenswert ist, daß der Übergang für alle Spike-Intervalle bei einer ziemlich gleichbleibenden Frequenz erfolgt. Tabelle 3 gibt die Frequenz für das Ende des "primary range" und den Übergang in den "secondary range" an.

Tabelle 3

Mittlere Frequenz für den Übergang vom "primary" zum "secondary range" für die ersten Spike-Intervalle.

Spike-Intervall	Übergangsfrequenz, sec^{-1}	SD	n
1.	44.9	± 13.4	11
2.	48.7	± 13.1	11
3.	56.2	± 17.4	10
4.	53.4	± 14.8	9
5.	50.6	± 12.5	7

Die Reizstromstärken nahmen vom ersten Intervall an zu (Abb. 23).

C. Entladung im "secondary range".

Die Steigung der Stromstärke-Frequenzbeziehung im "secondary range" nimmt ebenso wie die des "primary range" vom ersten Spikeintervall an ab, bis sie schließlich bei den meisten Motoneuronen spinalisierter Katzen in die Steigung des "primary range" übergeht. Tabelle 4 gibt die Steilheiten für die ersten Spikeintervalle an.

Tabelle 4

Mittlere Steilheiten des "secondary range" für die ersten Spikeintervalle.

Spike-Intervall	Steigung des "secondary range" Imp · sec^{-1} · nA^{-1}	SD	n
1.	17.0	± 5.0	8
2.	10.3	± 3.0	8
3.	7.9	± 2.2	8
4.	5.1	± 0.9	9
5.	4.2	± 1.5	8
6.	3.7	± 1.3	6
7.	4.0	± 2.7	4
8.	2.2	± 0.6	3

Noch höhere Reizströme, die dann zu einem unlinearen Verhalten führen, wurden in der vorliegenden Arbeit nicht mehr verwendet. Zum Vergleich ist in Abb. 24 das Reizstärke-Frequenzverhalten motorischer Axone wiedergegeben. Wie an der peripheren Faser findet sich bei medullären Fasern eine unlineare Beziehung.

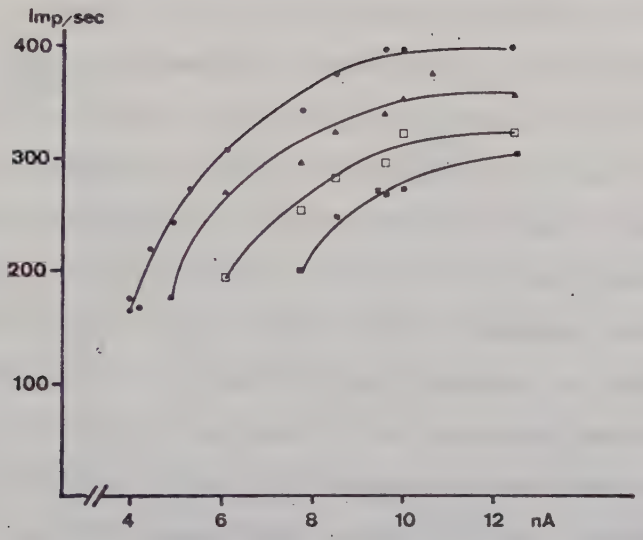

Abb. 24 :

Reizstromstärke-Frequenzbeziehung einer intramedullären motorischen Faser für das erste (Punkte), zweite (Dreiecke), dritte (offene Quadrate) und vierte (gefüllte Quadrate) Spike-Intervall.

D. Adaptation

Die Frequenzabnahme während der ersten Spikeintervalle wird als initiale Adaptation bezeichnet (GRANIT et al., 1963 b; KERNELL, 1965 a). Dabei nehmen die Steilheiten des "primary range" und des "secondary range" ab, bis die Steilheit des "primary range" einen konstanten Wert erreicht. Die Steilheit des "secondary range" nimmt stärker ab, bis sie schließlich der des "primary range" gleich wird. Bei der vorliegenden Untersuchung in der nur spinalisierte Tiere verwendet wurden, wurde ein Verschwinden des "secondary range" im allgemeinen schon nach dem vierten oder fünften Spikeintervall beobachtet (Abb. 25). Diese schnelle Adaptation ist hauptsächlich bei spinalisierten Tieren zu beobachten (BALDISSERRA und GUSTAFSSON, 1971 a).

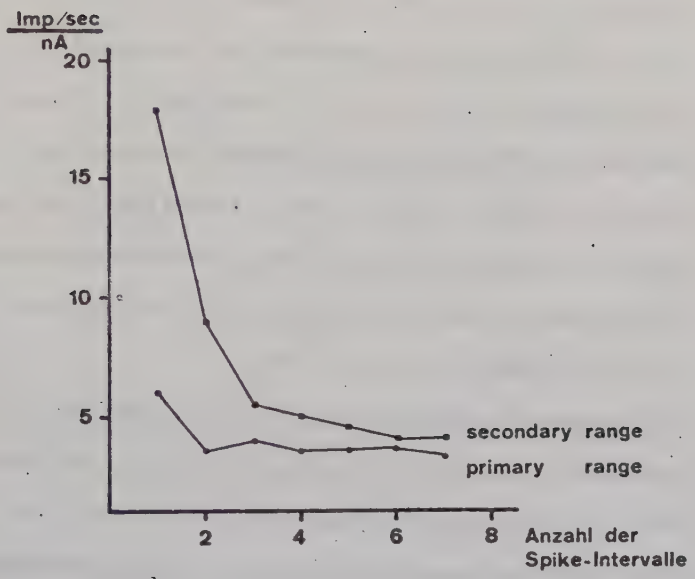

Abb. 25 :

Adaptationskurve eines Motoneurons. Die Steilheit des primary und secondary range ist für die ersten Spikeintervalle aufgetragen.

V. VERGLEICH VON LEITFÄHIGKEITSVERLAUF UND REIZSTÄRKE-FREQUENZBEZIEHUNG

Bei einigen Neuronen wurden Leitfähigkeitsverlauf und repetitive Entladung miteinander verglichen. Abb. 26 zeigt die Reizstromstärke-Frequenz-Beziehung für das Neuron, dessen Leitfähigkeitskurve in Abb. 14 wiedergegeben ist. Man sieht eine gute Übereinstimmung zwischen Übergangsfrequenz vom "primary" zum "secondary range" (bzw. dem zugehörigen Spikeintervall der repetitiven Entladung) und dem Übergang der Plateau-Phase zum späten exponentiellen Abfall in der Leitfähigkeitskurve.

Die Übergangsfrequenz liegt bei 60 Hz. Dies entspricht einem Spikeintervall vom 16.7 msec (Abb. 26). Das Ende der Plateau-Phase liegt im Vergleich hierzu bei 15 msec (Abb. 14). Auch die Mittelwerte zeigen eine recht gute Übereinstimmung: Das Ende der Plateau-Phase bei 20 msec $\pm$ 4.4 SD (n=11), der Übergang zwischen den beiden "ranges" bei 44.9 $\pm$ 13.4 SD (n = 12), entsprechend einem Spikeintervall von 22 msec. Noch deutlicher wird der Zusammenhang zwischen Leitfähigkeitsänderung während der NHP und dem Spikeintervall, wenn statt der üblichen Stromstärke-Frequenz-Kurve in Abb. 26 das Spikeintervall als Funktion des um den Rheobasenstrom verminderten Reizstroms ($I - I_o$) aufgetragen wird (Abb. 27).

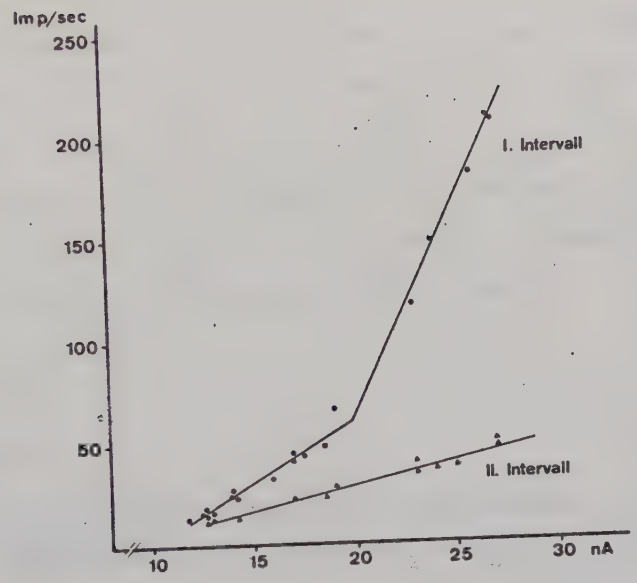

Abb. 26 :

Stromstärke-Frequenz-Kurve der beiden ersten Spikeintervalle. Intrazelluläre Reizung durch lange depolarisierende Rechteckströme. Dieses Neuron zeigt nur im ersten Spikeintervall einen "secondary range", d.h. das Neuron adaptiert sehr rasch. Bei einer Stromstärke von 27 nA müßte sonst ein "secondary range" sichtbar sein.

Diese Stromstärke-Intervall-Beziehung zeigt beim selben Neuron für das erste Intervall einen sehr ähnlichen Verlauf wie die Leitfähigkeitskurve nach einem einzelnen Spike (Abb. 14). Wie bei der

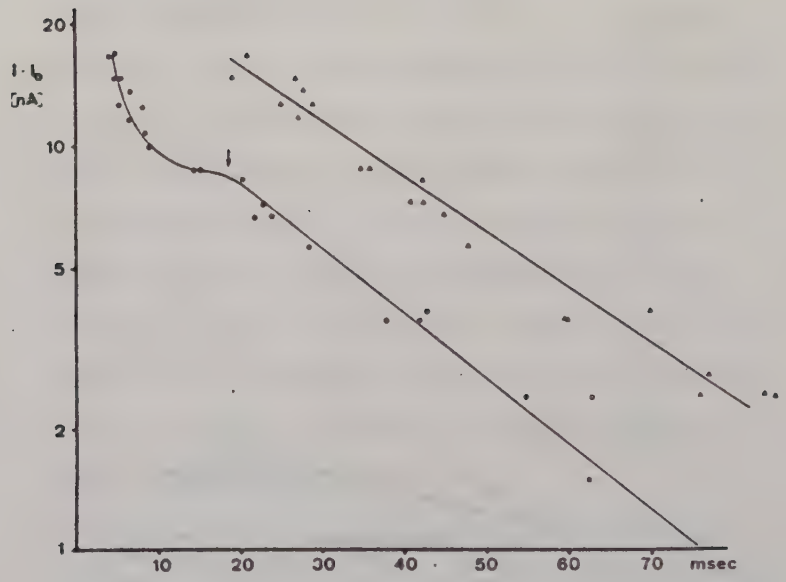

Abb. 27 :

Stromstärke-Intervall-Beziehung für das erste (Punkte) und zweite (Dreiecke) Spikeintervall. Reizung wie in Abb. 22. Ordinate: $I - I_o$ (I_o : Rheobasenstromstärke). Abszisse: Dauer des Spikeintervalls. Das Plateauende der Leitfähigkeitskurve aus Abb. 14 ist durch einen Pfeil markiert (18 msec). Gleiches Neuron wie in Abb. 14 und 26.

Leitfähigkeitsänderung findet sich hier (Abb. 27) ein Plateau, dessen Ende bei 18 msec (Pfeil) liegt (gegenüber 15 msec in der Leitfähigkeitskurve). Außer dem Übergang vom "primary" zum "se-

condary range" kann durch einen Vergleich beider Vorgänge noch eine andere Parallele entdeckt werden: Für das zweite Intervall ergibt sich eine Summation in der Leitfähigkeitskurve (Abb. 17), der eine Verlängerung des Spikeintervalls in der Reizstärke-Intervall-Beziehung (Abb. 27) entspricht. In beiden Kurven verschwindet außerdem das Plateau während des zweiten Spikeintervalls, so daß beide Kurven einen parallelen Verlauf zeigen.

DISKUSSION

I. MEMBRANEIGENSCHAFTEN DER UNTERSUCHTEN MOTONEURONE

Die Identifizierung von α-Motoneuronen war im allgemeinen einfach, da auf einen antidromen Reiz nur wenige Rückenmarkselemente feuern. Die Abgrenzung von motorischen Fasern war auf Grund der Aktionspotentialform möglich (Abb. 5). Da γ-Motoneurone in den motorischen Kernen direkt neben den α-Motoneuronen liegen (BRYAN et al., 1972) mußten diese beiden Zelltypen getrennt werden. Das war durch die Bestimmung der Leitungsgeschwindigkeit zu erreichen, die sich bei beiden Zelltypen um einen Faktor 3 unterscheidet (WUERKER et al., 1965).

Wegen ihrer Bedeutung für die Art und Weise der repetitiven Entladung wurden die Membraneigenschaften der untersuchten Moto-

neurone bestimmt. Zwischen Membranwiderstand und phasisch-tonischem Verhalten besteht eine Beziehung. Dabei haben phasisch entladende Motoneurone einen höheren Widerstand als tonische (BURKE, 1967, 1968a, 1968 b). Der durchschnittliche Gesamtwiderstand betrug bei diesen Messungen 1.8 MΩ und lag damit in dem Bereich, wie er für phasische Motoneurone nach anderen Autoren zu erwarten ist (BURKE, 1967; KERNELL, 1966). Tonische Motoneurone weisen einen Widerstand von über 2 MΩ auf. Daß die Messungen hauptsächlich von phasischen Motoneuronen stammen, zeigte sich ebenfalls in den Versuchen mit Muskelnervenreizung, wobei eine direkte Identifizierung der angestochenen Motoneurone möglich war. Es wurden dabei überwiegend Gastrocnemius-Neurone über längere Zeit abgeleitet. Das ist im Hinblick auf die relativ dicken Elektroden auch nicht verwunderlich, weil phasische Neurone ein größeres Soma besitzen und daher leichter getroffen werden können (KERNELL, 1966).

Wichtig für die Interpretation repetitiven Entladungsverhaltens war die Tatsache, daß fast alle Motoneurone eine lineare Strom-Spannungs-Charakteristik zeigten. Bei intrazellulärer Reizung mit depolarisierendem Gleichstrom kam es deshalb nicht zu einer Änderung des Widerstandes, wie sie etwa an der peripheren Nervenfaser bei Depolarisation auftritt. In der Stromstärke-Frequenz-Kurve ist dadurch auch keine Frequenzerhöhung durch Erhöhung

des Membranwiderstandes bei höheren Reizströmen verdeckt vorhanden, weil im linearen Bereich der Strom-Spannungs-Kurve gemessen wurde.

Die durchschnittliche Zeitkonstante der Membran war mit 3.4 msec so kurz, daß sie für den Verlauf der NHP keine Rolle spielt. Die NHP ist vielmehr durch eine Erhöhung der K^+-Leitfähigkeit bedingt, wie durch die Bestimmung des NHP-Gleichgewichtspotentials (Abb. 12) nahegelegt wurde.

Wenn die Leitfähigkeitsänderung am Ende der NHP gegen 0 geht, kehrt auch das Membranpotential zum Ausgangspotential zurück. Die Abfallszeitkonstante der Leitfähigkeitsänderung sollte nach dieser Überlegung etwa ein Viertel der mittleren NHP-Dauer betragen. Da die beiden Werte gut übereinstimmen (Abfallszeitkonstante: 20 msec; mittlere NHP-Dauer: 97 msec) ist das ein weiterer Hinweis dafür, daß die NHP fast ausschließlich durch K^+-Leitfähigkeitsänderungen bestimmt wird.

II. BEDEUTUNG DER LEITFÄHIGKEITSÄNDERUNG FÜR DEN ÜBERGANG VOM "PRIMARY" ZUM "SECONDARY RANGE"

Es besteht eine auffallende Parallelität zwischen dem Verlauf der Leitfähigkeitserhöhung während des Nachpotentials einerseits und der repetitiven Entladungstätigkeit andererseits. Diese Verknüpfung von Leitfähigkeit und repetitiver Entladung läßt sich folgendermas-

sen deuten:

Der depolarisierende Gleichstrom der durch die Mikroelektrode im Soma appliziert wurde, breitet sich elektrotonisch zum Initialsegment aus und bewirkt dort eine Depolarisation. Da das Schwellenpotential im Initialsegment am niedrigsten ist (COOMBS et al., 1957 a, 1957 b) wird dort zuerst ein AP ausgelöst; dieses breitet sich in zwei Richtungen aus, einmal ins Axon und zum anderen ins Soma und die proximalen Dendriten. Das AP im Soma-Dendriten-Bereich ist im Gegensatz zum IS-Spike des Initialsegmentes von einer Nachhyperpolarisation gefolgt. Diese Hyperpolarisation breitet sich wiederum elektrotonisch zum Initialsegment aus und wirkt dort dem depolarisierenden Gleichstrom entgegen. Von der Größe der Leitfähigkeitserhöhung durch die NHP und von ihrem zeitlichen Verlauf hängt es ab, wann im Initialsegment die Schwelle wieder erreicht wird, d.h. hängt die Dauer des Spikeintervalls ab.

Die repetitive Entladung des Motoneurons unter physiologischen Bedingungen beruht auf diesem Hin- und Zurücklaufen von synaptischen Strömen, Aktionspotential und Nachhyperpolarisation.

Im Leitfähigkeitsverlauf (Abb. 14) fand sich kein einfacher exponentieller Abfall während der NHP, wie er in theoretischen Modellen angenommen wird (KERNELL, 1972), sondern ein Plateau in der frühen Phase des Nachpotentials. Bei einem Vergleich zwischen dem Intervall bis zum Ende des Plateaus und dem Spike-Intervall bei Über-

gang vom "primary" zum "secondary range" ergab sich eine sehr gute Übereinstimmung (20 msec gegenüber 22 msec). Daß der Übergang vom "primary" zum "secondary range" durch einen Vorgang während der NHP bedingt ist, der immer zur selben Zeit auftritt, wird durch den Befund nahegelegt, daß bei den ersten Spikeintervallen der Übergang vom "primary" zum "secondary range" immer bei ziemlich gleichen Frequenzen, d.h. Spikeintervallen auftritt (Abb. 23). Es schien naheliegend, den Übergang von der exponentiellen Phase zum Plateau der Leitfähigkeitskurve mit dem Übergang vom "primary" zum "secondary range" in Verbindung zu bringen.

Zunächst mußte aber ausgeschlossen werden, daß es sich bei dem Plateau in der Leitfähigkeitskurve um einen Meßartefakt handelt. Eine Verfälschung könnte sich aus der Tatsache ergeben, daß die Zeitkonstante der Membran zu frühen Zeiten klein ist im Verhältnis zu späteren Zeiten. Bei gleicher Dauer des Stromimpulses könnte dadurch einmal der Endwert der Potentialänderung erreicht worden sein, im anderen Falle z.B. erst 60 %. Diesem Umstand wurde jedoch insofern Rechnung getragen, als die Stromimpuls-Dauer so lang gewählt wurde, daß über 80 % des Endwertes der Potentialänderung erreicht wurden auch bei der größten Zeitkonstante am Ende der NHP. Etwaige geringe Fehlmessungen aus diesem Grund konnten das Auftreten der Plateau-Phase nicht erklären.

Eine Verzerrung könnte auch dadurch auftreten, daß bis zum Maximum der NHP das Potential in hyperpolarisierender vom Maximum bis zum Ende der NHP in depolarisierender Richtung läuft. Wenn diese Potentialänderung ein Grund für das Plateau in der Leitfähigkeitskurve wäre, dann sollte man ein zeitliches Übereinstimmen von Maximum und Ende der Plateau-Phase erwarten, was jedoch nicht der Fall ist. Das Maximum der NHP liegt im Mittel bei 15.6 msec, das Plateau-Ende bei 20 msec.

Der Übergang vom "primary" zum "secondary range" könnte ausserdem allein darauf zurückzuführen sein, daß sich zu frühen Zeiten (bis zum Maximum der NHP) das Membranpotential vom Schwellenpotential entfernt, nach dem Maximum sich jedoch wieder nähert. Die Frequenzsteigerung bei höheren Strömen, die dem "secondary range" entspricht, könnte somit darauf beruhen, daß bei kurzen Intervallen das Membranpotential schon näher am Schwellenpotential liegt. Würde dieser Umstand für den Übergang vom "primary" zum "secondary range" verantwortlich sein, dann sollte die Korrelation zwischen der Zeit bis zum Maximum der NHP und dem Spike-Intervall beim Übergang "primary/secondary range" ziemlich groß sein. KERNELL (1965) hat jedoch nur eine geringe Übereinstimmung gefunden. Die Zeit bis zum Maximum der NHP war fast in jedem Falle kürzer als das Spike-Intervall am Übergang "primary/secondary range". Da in der vorliegenden Untersuchung die Zeit bis zum Maximum der NHP 15.6 msec betrug, die Dauer des Spike-

Intervalls beim Knick in der Frequenzkurve mit 20 msec deutlich länger war, scheint der Befund von KERNELL (1956) die Annahme zu bestätigen, daß für den Übergang vom "primary" zum secondary range" die besondere Form der Leitfähigkeitskurve verantwortlich ist. Der parallele Verlauf der Leitfähigkeitskurve (Abb. 14 und Abb. 28) und der Stromstärke-Intervall-Kurve spricht ebenfalls für diese Annahme. In beiden Kurven findet sich bei längeren Intervallen ein exponentieller Verlauf, dessen Zeitkonstante vergleichbar ist. Ebenso erfolgt der Übergang in ein Plateau in beiden Kurven bei gleichen Zeiten. Dabei entspricht die exponentielle Abnahme in der Leitfähigkeitskurve den Frequenzen des "primary range" und die Plateau-Phase denen des "secondary range".

Bei einer Verkürzung des Spikeintervalls steigt die Leitfähigkeit, die am Ende des Spike-Intervalls herrscht bis zur Plateau-Phase exponentiell an. Bei einer weiteren Abnahme des Spike-Intervalls steigt die Leitfähigkeit nicht mehr weiter exponentiell sondern weniger an, d.h. es ist eine geringere Reizstromzunahme erforderlich, um eine gleiche Verkürzung des Spike-Intervalls hervorzurufen, oder anders ausgedrückt: Bei gleicher Reizstromzunahme nimmt die Entladungsfrequenz stärker zu. Noch ein anderer Befund spricht dafür, daß der Übergang zum "secondary range" durch das Plateau der Leitfähigkeitskurve bedingt ist: Bei einigen Zellen konnte in der Leitfähigkeitskurve kein Plateau gemessen werden. Im repetitiven Verhalten war dann auch kein "secondary range" oder nur ein sehr flacher

Übergang zu bestimmen. GRANIT et al. (1963) haben ebenfalls Motoneurone beobachtet, die keinen "secondary range" aufwiesen, ohne daß diese Zellen eine Schädigung erkennen ließen. Die Bedeutung der Nachdepolarisation für die repetitive Entladung dürfte, wie auch schon GRANIT et al. (1963) vermuteten, bei Katzenmotoneuronen gering sein. Die Dauer war mit 3.5 msec sehr kurz. Frequenzen, bei denen die NDP eine Rolle spielen würde (290 Hz und darüber) wurden unter physiologischen Bedingungen kaum beobachtet. In der Leitfähigkeitskurve entsprach dieser Zeit der NDP der steile Abfall am Beginn der Kurve.

Alle diese Befunde sprechen dafür, daß der Leitfähigkeitsverlauf während eines Spike-Intervalls der wichtigste Faktor beim Übergang vom "primary" zum "secondary range" ist.

III. BEDEUTUNG DER LEITFÄHIGKEITSSUMMATION FÜR DIE INITIALE ADAPTATION

Während der initialen Adaptation kommt es im Verlauf von wenigen Spike-Intervallen zu einer Abnahme der Entladungsfrequenz auf einen konstant bleibenden Wert (Abb. 22). Um das zweite Spike-Intervall auf die Dauer des ersten zu verkürzen ist ein höherer Reizstrom notwendig (Abb. 27). Wenn die Leitfähigkeitszunahme wirklich ein wichtiger Faktor für die Regulation des repetitiven Entladens ist, dann sollte man erwarten, daß die Leitfähigkeit nach dem zweiten Spike stärker erhöht ist als nach dem ersten. Die Leitfä-

higkeitsmessung bei repetitiv antidromer Reizung bestätigt auch diese Überlegung (Abb. 16). ITO und OSHIMA (1962) und BALDISSERRA und GUSTAFSSON (1971) hatten ebenfalls eine höhere Leitfähigkeit nach dem zweiten AP gemessen, jedoch keinen Verlauf dieser Summation angegeben. Durch die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung konnte jedoch gezeigt werden, daß das Adaptationsverhalten im "primary" und "secondary range" durch den Verlauf der Leitfähigkeitskurven bei Summation erklärt werden kann.

a) "primary range"

Adaptation im "primary range" bedeutet ein Abflachen der Steigung auf einen konstanten Wert. Diese Frequenzabnahme bei aufeinanderfolgenden Intervallen wird durch die Summation der Leitfähigkeit erklärt, wie sie in Abb. 16 zu erkennen ist. Die dadurch bedingte stärkere Hyperpolarisation wirkt dem Erreichen der Schwelle im Initialsegment entgegen. Daraus resultiert ein längeres Spike-Intervall. Die Zunahme der Leitfähigkeit erfolgt während der ersten Intervalle. Die Zunahme vom dritten zum fünften Intervall ist geringer als vom ersten zum dritten. Dem entspricht in der Stromstärke-Frequenz-Kurve vom dritten zum fünften Intervall ein geringeres Abflachen des "primary range". Schließlich ist die Summation der Leitfähigkeit maximal und die Steigung des "primary range" bleibt für die folgenden Intervalle konstant.

b) "secondary range"

Bei aufeinanderfolgenden Spikes flacht das Plateau in der Leitfähigkeitskurve merklich ab, bis es schließlich ganz verschwindet. Wie schon gezeigt wurde, ist der Übergang vom "primary" zum "secondary range" durch den Übergang zur Plateau-Phase der Leitfähigkeitskurve bedingt. Dazu paßt der Befund, daß bei repetitiver antidromer Reizung das Plateau der Leitfähigkeitskurve verschwindet (Abb. 16) und gleichzeitig die Steigung des "secondary" in die des "primary range" übergeht (Abb. 23 und 25). Nach Adaptation ist nur noch ein einfach exponentieller Verlauf der Leitfähigkeit zu erkennen.

Auch für die Vorgänge während der Adaptation scheint also der Leitfähigkeitsverlauf, die Summation und das Verschwinden des Plateaus, der wichtigste Mechanismus zu sein.

IV. MÖGLICHE ENTSTEHUNGSWEISE DER PLATEAU-PHASE

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit können die Ursachen der Plateau-Phase in der Leitfähigkeitskurve nicht zwingend nachweisen. Im Zusammenhang mit zahlreichen Befunden aus der Literatur läßt sich jedoch eine Entstehungsweise denken, die darauf beruht, daß die aktivierte Membranfläche des Motoneurons bei einer Entladung innerhalb des "primary range" größer ist als innerhalb des "secondary range" (Abb. 28) :

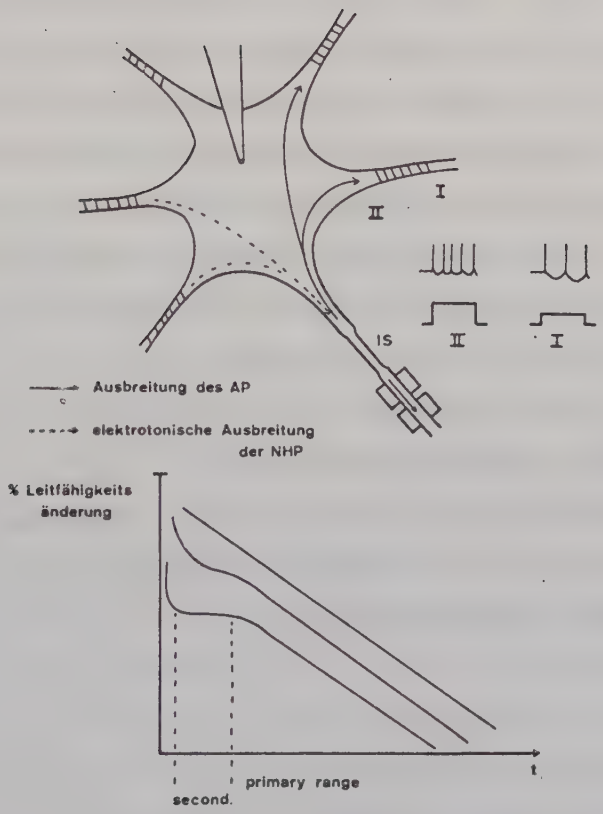

Abb. 28 : Modellvorstellung von der Entstehungsweise der Plateau-Phase in der Leitfähigkeitskurve.

Im oberen Teil der Abbildung ist ein Motoneuron mit Stammdendriten schematisch dargestellt. Ein Aktionspotential entsteht im

Initialsegment und läuft antidrom ins Soma und die Dendriten. Bei starker Depolarisation (II) kommt es zu einer stärkeren Inaktivierung in den Dendriten, wodurch sich das AP nicht so weit in die Dendriten ausbreitet, sondern nur bis zum Punkt II. Es wird nur eine geringere Membranfläche aktiviert. Die NHP bei II ist daher kleiner und in der Leitfähigkeitskurve im unteren Teil der Abbildung ist bei kurzer Zeit (also kurzen Spikeintervallen) eine niedrigere Leitfähigkeitsänderung zu bemerken. Bei aufeinanderfolgenden AP's wird durch die NHP die Inaktivierung vermindert und das AP kann weiter in die Dendriten laufen. Eine größere Membranfläche wird aktiviert und die gleichmäßigere Potentialverteilung führt zum einfach exponentiellen Abfall in der Leitfähigkeitskurve.

Ein Aktionspotential läuft antidrom in die proximalen Dendriten. Da die Leitungsgeschwindigkeit in den Dendriten sehr klein ist (FATT, 1957) kommt es zu einer beträchtlichen Verzögerung der AP-Fortleitung. Zu frühen Zeiten könnten daher die NHP-Ströme von einer geringeren aktivierten Fläche stammen, und die Leitfähigkeit zu diesen Zeiten geringer sein. Das erste AP würde eine kurze Strecke in die Dendriten laufen, weil nicht mehr genügend aktivierbare Na^+-Träger zur Verfügung stehen (GRANIT et al., 1966b). Durch die NHP des ersten AP könnten wieder mehr aktivierbare Na^+-Träger bereitgestellt werden. Man könnte sich vorstellen, daß dadurch das zweite AP weiter in den Dendriten vordringen kann als das erste, weil eben die NHP die vorausgegangene Inaktivierung vermindert.

Die NHP im "primary range" ist größer, obwohl im "secondary range" durch stärkere Depolarisation eine größere NHP zu erwarten wäre (Abb. 12). CALVIN und SCHWINDT (1972) kommen auf Grund dieses Befundes und einer genauen Analyse der Nachpotentialformen während des "primary" und "secondary range" zu dem Schluß, daß die aktivierte Soma-Dendritenfläche im "primary range" größer als im "secondary range" sein muß.

Zum gleichen Schluß kommt GRANIT et al. (1966 b) durch Interaktion von intrazellulärer und orthodromer Reizung. Während es im "primary range" zu einer linearen Addition der beiden Reizströme, gemessen an der Entladungsfrequenz kommt, ist im

"secondary range" keine lineare Addition zu beobachten. Bei gleichzeitiger Reizung mit IPSP's verschwindet der "secondary range" und die Zelle feuert nur noch im "primary".

Diese beschriebene räumliche Summation gleichzeitig zur zeitlichen, könnte vielleicht das Verschwinden der Plateau-Phase in der Leitfähigkeitskurve nach den ersten Spikeintervallen erklären.

ZUSAMMENFASSUNG

1. An lumbalen Motoneuronen der Katze wurde die Beziehung zwischen repetitiver Entladung und Leitfähigkeitsverlauf während der Nachpotentiale untersucht.

2. Die Messungen stammen fast ausschließlich von phasischen Motoneuronen. Die Zuordnung wurde durch Muskelnervenreizung, durch Bestimmung der passiven Membraneigenschaften (Widerstand, Zeitkonstante) und durch eine Analyse der Nachpotentiale ermöglicht.

3. Die Reizstromstärke-Frequenz-Beziehung zeigte bei intrazellulärer Reizung für die ersten Spike-Intervalle einer Salve zwei lineare Bereiche, den "primary" und den "secondary range".

4. Während der ersten Spike-Intervalle adaptiert das Motoneuron. Dabei flacht die Steigung des "primary" und des "secondary range" ab. Der "secondary range" verschwindet und übrig bleibt

eine einfache lineare Stromstärke-Frequenz-Beziehung.

5. Der Leitfähigkeitsverlauf nach einem antidromen Aktionspotential zeigt nach der schnellen Repolarisation in der frühen Phase ein mehr oder weniger ausgeprägtes Plateau (bei 20 msec nach Spike-Beginn), das in einen exponentiellen Abfall übergeht.

6. Das Intervall von Spike-Beginn bis Plateau-Ende der Leitfähigkeitskurve und das Spike-Intervall beim Übergang vom "primary range" zum "secondary range" sind gleich lang (20 msec bzw. 22 msec) und zwar für das erste wie für die folgenden Intervalle am Beginn einer Salve.

7. Bei repetitiv antidromer Reizung flacht das Plateau der Leitfähigkeitsbeziehung mit zunehmender Spikezahl immer mehr ab. Nach dem fünften Aktionspotential ergibt sich ein einfach exponentieller Abfall der Leitfähigkeit während des gesamten Nachpotentials.

8. Bei intrazellulärer Reizung durch Gleichstrom zeigte der Leitfähigkeitsverlauf eine ähnliche Form. Das Plateau, das nach dem ersten Spike vorhanden ist, flacht nach dem zweiten deutlich ab. Gleichzeitig steigt die Leitfähigkeit mit zunehmender Spike-Zahl an (Summation).

9. Die zeitliche Parallelität von Leitfähigkeitsänderung und repetitiver Aktivität äußert sich im parallelen Verlauf von Leitfähigkeitskurve und Stromstärke-Intervall-Beziehung.

10. Es ist daher anzunehmen, daß die Leitfähigkeitserhöhung mit ihrem besonderen zeitlichen Verlauf der wichtigste Faktor in der Regulation der repetitiven Entladung von Motoneuronen ist.

LITERATURVERZEICHNIS

ARAKI, T., OTANI T. and FURUKAWA, T. : The elelctrical activities of single motoneurones in toad's spinal cord, recorded with intracellular electrodes. Jap. J. Physiol. 3, 254-267 (1953).

BALDISSERRA, F. and GUSTAFSSON, B. : Time course and potential dependence of the membrane conductance change during the afterhyperpolarization in the cat's α-motoneurones. Brain Res. 17, 365-368 (1970).

BALDISSERRA, F. and GUSTAFSSON, B. : Supraspinal control of the discharge evoked by constant current in the α-motoneurones. Brain Res. 25, 642-644 (1971 a).

BALDISSERRA, F. and GUSTAFSSON, B. : Regulation of repetitive firing in motoneurones by the afterhyperpolarization conductance. Brain Res. 30, 431-434 (1971 b).

BARRETT, J.N. and GRAUBARD, K. : Fluorescent staining of cat motoneurones in vivo with beveled micropipettes. Brain Res. 18, 565-568 (1970).

BARRETT, J.N. and CRILL, E. : Specific membrane resistivity of dyeinjected cat motoneurones. Brain Res. 28, 556-561 (1971).

BISHOP, P.O., JEREMY, D. and LANCE, J.W. : Properties of pyramidal tract. J. Neurophysiol. 16, 537-550 (1953).

BROCK, L.G., COOMBS, J.S. and ECCLES, J.C. : Action potentials of motoneurones with intracellular electrode. Proc. Univ. Otago med. Sch. 29, 14-15 (1951).

BROCK, L.G., COOMBS, J.S. and ECCLES, J.C. : The recording of potentials from motoneurones with an intracellular electrode. J. Physiol. 117, 431-460 (1952).

BROCK, L.G., COOMBS, J.S. and ECCLES, J.C. : Intracellular recording from antidromically activated motoneurones. J. Physiol. 122, 429-461 (1953).

BROOKS, C.Mc.C., DOWNMAN, C.B.B. and ECCLES, J.C. : After-potentials and excitability of spinal motoneurones following antidromic activation. J. Neurophys. 13, 9-38 (1950).

BROOKS, V.B. and WILSON, V.J. : Localization of stretch reflexes by recurrent inhibition. Science 127, 572-573 (1958).

BRYAN, R.N., TREVINO, D.L. and WILLIS, W.D. : Evidence for a common location of α and γ-motoneurones. Brain Res. 38, 193-196 (1972).

BURKE, R.E. : Motor unit types of cat triceps surea muscle. J. Physiol. 193, 141-160 (1967).

BURKE, R.E. : Group Ia synaptic input to fast and slow twitch motor units of cat triceps surea. J. Physiol. 196, 605-630 (1968 a).

BURKE, R.E. : Firing patterns of gastrocnemius motor units in the decerebrate cat.
J. Physiol. 196, 631-654 (1968 b).

BURKE, R.E. and ten BRUGGENCATE, G. : Electrotonic characteristics of α-motoneurones of varying size.
J. Physiol. 212, 1-20 (1971).

CALVIN, W.H. and SCHWINDT, P.C. : Steps in the production of motoneuron spikes during rhythmic firing.
J. Neurophysiol. 35, 297-310 (1972).

COOMBS, J.S., CURTIS, D.R. and ECCLES, J.C. : The interpretation of spike potentials of motoneurones.
J. Physiol. 139, 198-231 (1957 a).

COOMBS, J.S., CURTIS, D.R. and ECCLES, J.C. : The generation of impulses in motoneurones.
J. Physiol. 139, 232-249 (1957 b).

COOMBS, J.S., CURTIS, D.R. and ECCLES, J.C. : The electricals constants of the motoneurone membrane.
J. Physiol. 145, 505-528 (1959).

COOMBS, J.S., ECCLES, J.C. and FATT, P. : The electrical properties of the motoneurone membrane.
J. Physiol. 130, 291-325 (1955).

DENNY-BROWN, D. : The histological feature of striped muscle in relation to its functional activity.
Proc. Roy. Soc, B. 104, 371-411 (1929).

ECCLES, J.C. : The central action of antidromic impulses in motor nerve fibres.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 260, 385-415 (1955).

ECCLES, J.C., ECCLES, R.M. and LUNDBERG, A. : Durations of after-hyperpolarization of motoneurones supplying fast and slow muscles. Nature, 179, 866-868 (1957).

ECCLES, J.C., ECCLES, R.M. and LUNDBERG, A. : The action potentials of the α-motoneurones supplying fast and slow muscles. J. Physiol. 142, 275-291 (1958).

ECCLES, J.C., FATT, P. and KOKETSU, K. : Cholinenergic and inhibitory synapses in a pathway from motor axon collaterals to motoneurones. J. Physiol. 126, 524-562 (1954).

FATT, P. : Electric potentials occuring around a neurone during its antidromic activation. J. Neurophysiol. 20, 27-60 (1957).

FRANK, K. and FUORTES, M.G.F. : Potentials recorded from the spinal cord with microelectrodes. J. Physiol. 130, 625-654 (1955).

FRANK, K. and FUORTES, M.G.F. : Stimulation of spinal motoneurones with intracellular electrodes. J. Physiol. 134, 451-470 (1956).

FRANK, K. and FUORTES, M.G.F. : Excitation and conduction. Ann. Rev. Physiol. 23, 357-386 (1961).

FUORTES, M.G.F., FRANK, K. and BECKER, M.C. : Steps in the production of motoneurone spikes. J. Gen. Physiol. 40, 735-752 (1957).

GASSER, H.S. and GRUNDFEST, H. : Axon diameters in relation to the spike dimensions and the conduction velocity in mammalian A fibres. Am. J. Physiol. 127, 393-414 (1939).

GESTELAND, R.C., HOWLAND, B., LETTVIN, J.Y. and PITTS, W.H. : Comments on microelectrodes. Proceedings of the IRE 47, 1856-1862 (1959).

GRANIT, R., HENATSCH, H.D. and STEG, G. : Tonic and phasic ventral horn cells differentiated by post-tetanic potentiation in cat extensors. Acta Physiol. scand. 37, 114-126 (1956).

GRANIT, R., KERNELL, D. and LAMARRE, Y. : Algebraical summation in synaptic activation of motoneurones firing within the "primary range" to injected currents. J. Physiol. 187, 379-399 (1966 a).

GRANIT, R., KERNELL, D. and LAMARRE, Y. : Synaptic stimulation superimposed on motoneurones firing in the "secondary range" to injected current. J. Physiol. 187, 401-415 (1966 b).

GRANIT, R. and RENKIN, B. : Net depolarization and discharge rate of motoneurones, as measured by recurrent inhibition. J. Physiol. (Lond.) 158, 461-475 (1961).

GRANIT, R., KERNELL, D. and SMITH, R.S. : Delayed depolarization and the repetitive response to intracellular stimulation of mammalian motoneurones. J. Physiol. 168, 890-910 (1963 a).

GRANIT, R., KERNELL, D. and SHORTESS, G.K. : Quantitative aspects of repetitive firing of mammalian motoneurones, caused by injected currents. J. Physiol. 168, 911-931 (1963 b).

HASELOFF, O.W. and HOFFMANN, H.J. : Kleines Lehrburch der Statistik. Berlin, 1965.

HENATSCH, H.D., SCHULTE, F.J. and BUSCH, G. : Wandelbarkeit des tonisch-physischen Reaktionstyps einzelner Extensor-Motoneurone bei Variation ihrer Antriebe. Pflügers Arch. ges. Physiol. 270, 161-173 (1959).

HENNEMANN, E., SOMJEN, G. and CARPENTER, D.O.: Functional significance of cell size in spinal motoneurones. J. Neurophysiol. 28, 560-580 (1965).

HUNT, C.C. and KUNO, M. : Properties of spinal interneurones. J. Physiol. (Lond.) 147, 346-363 (1959).

HURSH, J.B. : Conduction velocity and diameter of nerve fibres. Am. J. Physiol. 127, 131-139 (1939).

ITO, M. and OSHIMA, T. : Temporal summation of after-hyperpolarization following a motoneurone spike.
Nature, 195, 910-911 (1962).

KERNELL, D. : The delayed depolarization in cat and rat motoneurones.
Progr. Brain Res. 12, 42-55 (1964).

KERNELL, D. : The adaptation and the relation between discharge frequency and current strength of cat lubosacral motoneurones stimulated by long-lasting injected currents.
Acta Physiol. Scand. 65, 65-73 (1965 a).

KERNELL, D. : High frequency repetitive firing of cat lumbosacral motoneurones stimulated by long-lasting injected currents.
Acta Physiol. Scand. 65, 74-86 (1965 b).

KERNELL, D. : The limits of firing frequency in cat lumbosacral motoneurones possessing different time course of after-hyperpolarization.
Acta Physiol. Scand. 65, 87-100 (1965 c).

KERNELL, D. : Input resistance, electrical excitability and size of ventral horn cell in cat spinal cord.
Science 152, 1637-1639 (1966).

KERNELL, D. : The repetitive impulse discharge of a simple neurone model compared to that of spinal motoneurones. Brain Res. 11, 685-687 (1968).

KERNELL, D. : The early phase of adaptation in repetitive impulse discharges of cat spinal motoneurones. Brain Res. 41, 184-186 (1972 a).

KERNELL, D. and SJÖHOLM, H. : Motoneurone model based on voltage clamp equations for peripheral nerve. Acta Physiol. Scand. 86, 546-562 (1972 b).

KUNO, M. : Excitability following antidromic activation in spinal motoneurones supplying red muscles. J. Physiol. 149, 374-393 (1959).

KUNO, M. and MIYAHARA, J.T. : Analysis of synaptic efficacy in spinal motoneurones. J. Physiol. 201, 479-493 (1969).

MEVES, H. : Die Nachpotentiale isolierter markhaltiger Nervenfasern des Frosches bei Einzelreizung. Pflügers Arch. 271, 665-679 (1960).

MOORE, J.W. and del CASTILLO, J. : An electronic electrode. IRE National Convention Record. pt. 9, 47-50 (1959).

NELSON, P.G. and BURKE, R. E. : Delayed depolarization in cat spinal motoneurones. Exptl. Neurol. 17, 16-26 (1967).

NELSON, P.G. and FRANK, K. : Anomalous rectification in cat spinal motoneurones and effect of polarizing currents on excitatory post-synaptic potential. J. Neurophysiol. 30, 1097-1113 (1967).

RALL, W. : Time constants and electrotonic length of membrane cylinders and neurones. Biophys. J. 9, 1483-1508 (1969a).

RALL, W. : Distributions of potential in cylindrical coordinates and time constants for a membrane cylinder. Biophys. J. 9, 1509-1541 (1969b).

REDMAN, S.J. and LAMPARD, D.G. : Monosynaptic stochastic stimulation of cat spinal motoneurones. I. Response of motoneurones to sustained stimulation. J. Neurophysiol. 31, 485-498 (1968).

REDMAN, S.J., LAMPARD, D.G. and ANNAL, P. : Monosynaptic stochastic stimulation of cat spinal motoneurones. II. Frequency transfer characteristics of tonically discharging motoneurones. J. Neurophysiol. 31, 499-508 (1968).

RENSHAW, B. : Central effects of centripetal impulses in axons of spinal ventral roots. J. Neurophysiol. 9, 191-204 (1946).

REXED, B. : The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. J. comp. Neurol. 96, 415-495 (1952).

RICHTER, D.W., SCHLUE, W.R., K.H. MAURITZ and NACIMIENTO, A.C. : Repetitive firing of spinal phasic motoneurones of the cat. Pflügers Arch. R 83, 332 (1972).

RUBIO, R. and ZUBIETA, G. : The variation of the elctric resistance of microelectrodes during the flow of current. Acta Physiol. Latino amer. 11, 91-94 (1961).

SCHWINDT, P.C. and CALVIN, W.H. : Membrane-potential trajectories between spikes underlying motoneurone firing rates. J. Neurophysiol. 35, 311-325 (1972).

STÄMPFLI, R. : Die doppelte Saccharosetrennwandmethode zur Messung von elektr. Membraneigenschaften mit extrazellul. Methoden. Helv. Physiol. Acta 21, 189 (1963).

WUERKER, R.B., McPHENDRAN A.M. and HENNEMANN, E. : Properties of motor units in a heterogeneous pale muscle (M. gastrocnemius) of the cat. J. Neurophysiol. 28, 85-99 (1965).

Herrn Professor Dr. A.C. NACIMIENTO danke ich für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit sowie für seinen Rat und seine Hilfe bei der Durchführung.

Ich danke Herrn Professor Dr. H. SCHMIDT für die Durchsicht des Manuskripts und wertvolle Hinweise.

Dem Sprecher des SFB 38 "Membranforschung", Herrn Professor Dr. R. STÄMPFLI danke ich für seine große Unterstützung und seinen Rat.

Die vorliegende Arbeit wurde durch den Sonderforschungsbereich 38 "Membranforschung" gefördert.

LEBENSLAUF

Am 7. August 1944 wurde ich in Krummau/CSSR als Sohn des kaufmännischen Angestellten Karl Mauritz und seiner Ehefrau Johanna geborene Lepschy, geboren.
Von 1950 bis 1955 besuchte ich die Volksschule. Danach das Humanistische Gymnasium in Passau und Augsburg, wo ich im Jahre 1964 die Reifeprüfung bestand.
Im November 1964 begann ich das Medizinstudium an der Universität München und legte dort 1965 das Vorphysikum und 1967 das Physikum ab.
Ab November 1969 studierte ich an der Universität des Saarlandes, wo ich 1970 mit dem Staatsexamen abschloß. Meine Medizinalassistentenzeit legte ich an den Universitätskliniken in Homburg-Saar ab. Im Mai 1972 erhielt ich die Approbation als Arzt. Mit meiner Doktorarbeit habe ich am I. Physiologischen Institut der Universität des Saarlandes im Jahre 1969 begonnen. Seit September 1970 bin ich als wissenschaftlicher Mitarbeiter am I. Physiologischen Institut in Homburg-Saar, Abteilung Membranphysiologie des ZNS tätig.